

SÉRIE A N° 912
N° D'ORDRE: 1732

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

St. JONESCO

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LE RÔLE PHYSIOLOGIQUE DES
ANTHOCYANES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **Novembre 1922** devant la Commission d'examen.

MM. Gaston BONNIER..... *Président.*

PORTIER..... }
JOLEAUD..... } *Examineurs.*

PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

1922



Digitized by the Internet Archive
in 2026

SÉRIE A N° 912

N° D'ORDRE: 1732

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

St. JONESCO

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LE RÔLE PHYSIOLOGIQUE DES ANTHOCYANES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **2 DEC** Novembre 1922 devant la Commission d'examen.

MM. Gaston BONNIER..... *Président.*

PORTIER..... } *Examineurs.*
JOLEAUD..... }



PARIS

MASSON ET C^{ie}, ÉDITEURS

LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE

120, BOULEVARD SAINT-GERMAIN

—
1922

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen MOLLIARD, *Professeur*. Physiologie végétale.

Doyen honoraire . . . P. APPELL.

Professeurs honoraires. { P. PUISEUX.
VÉLAIN.
BOUSSINESQ.
BOUTY.

Émile PICARD Analyse supérieure et algèbre supérieure.
Gaston BONNIER . . . Botanique.
KÖNIGS Mécanique physique et expérimentale.
GOURSAT Calcul différentiel et calcul intégral.
HALLER Chimie organique.
JOANNIS Chimie (Enseignement P. C. N.).
JANET Électrotechnique générale.
WALLERANT Minéralogie.
ANDOYER Astronomie.
PAINLEVÉ Mécanique analytique et mécanique céleste.
HAUG Géologie.
H. LE CHATELIER . . Chimie générale.
Gabriel BERTRAND . . Chimie biologique.
M^{me} P. CURIE Physique générale.
CAULLERY Zoologie (Évolution des êtres organisés).
C. CHABRIÉ Chimie appliquée.
G. URBAIN Chimie minérale.
Émile BOREL Calcul des probabilités et Physiq. mathém.
MARCHIS Aviation.
Jean PERRIN Chimie physique.
G. PRUVOT Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
ABRAHAM Physique.
CARTAN Mécanique rationnelle.
Cl. GUICHARD Géométrie supérieure.
LAPICQUE Physiologie générale.
GENTIL Géographie physique.
VESSIOT Théorie des groupes et calcul des variations.
COTTON Physique.
DRACH Application de l'analyse à la géométrie.
C. FABRY Physique.
Charles PÉREZ Zoologie, anatomie, physiologie comparée.
Léon BERTRAND . . . Géologie appliquée et géologie régionale.
DANGEARD Botanique (Enseignement P. C. N.).
LESPIEAU Théories chimiques.
LEDUC Physique théorique et Physique céleste.
MONTEL Mathématiques générales.
MAURAIN Physique du globe.

Professeurs

HÉROUARD Zoologie.
Rémy PERRIER Zoologie (Enseignement P. C. N.).
SAGNAC Physique théorique et Physique céleste.
RABAUD Biologie générale.
PORTIER Physiologie.
BLAISE Chimie organique.
PÉCHARD Chimie (Enseignement P. C. N.).
AUGER Chimie analytique.
M. GUICHARD Chimie minérale.
GUILLET Physique.

Secrétaire Daniel TOMBECK.

RECHERCHES SUR LE RÔLE PHYSIOLOGIQUE

DES

ANTHOCYANES

Par ST. JONESCO

INTRODUCTION

Les divers pigments des plantes colorées en rouge, bleu ou violet, ont attiré, depuis longtemps, l'attention des botanistes et des physiologistes. On a donné à tous ces pigments le nom général d'*anthocyanes*. Jusqu'à présent, divers auteurs ont fait beaucoup d'observations et de recherches sur ce groupe de corps. On a plus ou moins approfondi le mode de formation de ces pigments, les différentes conditions qui favorisent leur apparition, leur constitution chimique ; on a même essayé d'élucider leur rôle dans la vie des plantes.

Les hypothèses et les théories qui ont été émises tout d'abord sur le rôle physiologique des anthocyanes sont fondées, en général, sur de simples déductions des observations faites dans la nature, sans qu'on ait abordé une étude expérimentale détaillée de cette question. Par le fait que ces opinions datent du temps où la nature chimique de ces pigments n'était pas connue, elles ne correspondent pas, dans la majorité des cas, à la réalité, de sorte que le rôle physiologique des anthocyanes reste encore obscur.

Les connaissances acquises récemment dans la composition et les propriétés chimiques de ces corps permettent d'envisager leur rôle physiologique à un point de vue nouveau. Les anthocyanes, étant des corps bien définis au point de vue chimique, on peut maintenant les étudier d'une manière plus précise et déterminer ce qu'elles deviennent,

quelles modifications chimiques elles éprouvent pendant leur transformation et, par suite, le rôle qu'elles peuvent jouer dans les phénomènes généraux de la vie intime des plantes.

Les anthocyanes, par leur constitution chimique, font partie de la classe des glucosides qui sont largement distribués chez les végétaux, et dont le rôle physiologique est plus ou moins connu. Il s'agit donc de voir si les anthocyanes, au point de vue de leur rôle, rentrent dans la catégorie des substances utilisées ultérieurement dans la nutrition des végétaux ou dans celle des produits inutilisables.

Le but de ce travail est de chercher à élucider cette question, sur laquelle les opinions antérieurement émises sont assez contradictoires.

Ces recherches ont été faites au Laboratoire de Botanique de la Sorbonne et au Laboratoire de Biologie végétale de Fontainebleau, dirigés par M. Gaston Bonnier, Membre de l'Institut, auquel je suis redevable du plus aimable accueil.

Je suis donc heureux d'adresser à M. Bonnier l'expression de ma vive reconnaissance pour les précieux conseils qu'il n'a cessé de me prodiguer pendant l'exécution de mon travail.

Je remercie également M. Dufour, Directeur-adjoint du Laboratoire de Fontainebleau, pour l'amabilité qu'il a montrée à mon égard au Laboratoire et particulièrement pour l'aide qu'il m'a apportée dans la rédaction de ce mémoire. Je lui adresse ici l'expression de ma sincère reconnaissance.

Je prie M. R. Combes de recevoir tous mes remerciements pour les renseignements qu'il m'a donnés relativement au sujet que j'ai étudié.

J'adresse à MM. Vladesco, professeur de Botanique et Recteur de l'Université de Bucarest, l'expression de ma profonde gratitude pour l'intérêt qu'il a bien voulu me témoigner en facilitant l'exécution de ce travail.

Enfin, je ne puis terminer cette introduction sans adresser à mon professeur M. E.-C. Teodoresco le témoignage de ma vive et respectueuse sympathie ; c'est lui qui m'a toujours encouragé dans ma carrière scientifique et qui a dirigé mes études vers la Physiologie végétale.

HISTORIQUE

Nous n'entrerons pas dans un historique détaillé des travaux relatifs à l'anthocyane, parce que le travail complet de miss Wheldale (53) et le résumé donné par J. Beauverie (2) nous dispensent de le faire. Pourtant nous rappellerons très succinctement les opinions les plus importantes émises sur la distribution, la formation, la nature chimique et le rôle des pigments anthocyaniques, en ajoutant aux données antérieures celles indiquées dans les travaux les plus récents.

1. — Répartition des anthocyanes.

Les diverses colorations rouges, bleues, violettes et leurs nombreuses nuances, largement répandues chez les végétaux, sont dues à un pigment, ou mieux à une classe de pigments, désignés dès l'année 1835, par Marquart, sous le nom d'*anthocyanes*. Ces composés se trouvent distribués dans tous les organes : tiges, feuilles, fleurs, fruits de nombreuses plantes supérieures de nos climats, et même dans les racines de certaines espèces. Ces corps sont beaucoup plus abondants chez les espèces tropicales, où leur formation semble être favorisée par les conditions spéciales de la lumière intense et du climat de ces pays.

Les anthocyanes sont localisées habituellement dans les tissus superficiels des plantes, dans l'épiderme et dans les assises sous-épidermiques, quelquefois dans le mésophylle.

La présence des anthocyanes a été aussi mise en évidence chez des plantes inférieures : les Mousses et les Marchantiacées. M^{lle} Herzfelder (15) a montré que les colorations rouge vif des feuilles des diverses espèces de Mousses sont dues à des pigments anthocyaniques. L'auteur explique l'apparition des pigments, qui sont localisés dans l'épiderme des organes, par l'augmentation d'intensité du phénomène

d'assimilation qui correspond en même temps à un arrêt de croissance de ces plantes.

Les pigments anthocyaniques se trouvent en général à l'état liquide, dissous dans le suc cellulaire des tissus ; mais les recherches de Molisch (32) les ont mis en évidence même à l'état solide : amorphe ou cristallisé. Cet auteur a constaté que l'anthocyane peut se déposer dans les cellules sous forme de granules chez les fleurs du *Pelargonium zonale*, de l'*Antirrhinum majus*, de certaines espèces de *Rosa*, etc., à l'état cristallisé ; le pigment se trouve sous forme d'aiguilles, de prismes, d'étoiles, dans l'épiderme ou dans le mésophylle des feuilles du Chou rouge, ou sous forme de pyramides à quatre faces, combinées avec des prismes, dans les cellules épidermiques de la face inférieure des pétales du *Begonia maculata*. Le même auteur a constaté la présence de cristaux anthocyaniques dans beaucoup d'autres espèces : dans les raisins, les pétales d'*Anagallis arvensis*, d'*Aquilegia atrata*, de *Medicago sativa*, de *Dianthus Caryophyllus*, etc...

2. — Propriétés chimiques des anthocyanes.

Les anthocyanes sont des corps solubles dans l'eau, dans des acides dilués ou dans l'alcool ; elles sont insolubles dans l'éther, la benzine, l'éther de pétrole, etc. Colorées en rouge dans un milieu acide, les anthocyanes deviennent violettes dans un milieu neutre et bleues dans un milieu alcalin. C'est sur cette propriété que s'appuient la plupart des auteurs pour expliquer les diverses colorations des plantes. Ces corps peuvent être retirés très facilement des organes qui les contiennent, en traitant ceux-ci soit par l'alcool, soit par des acides dilués. D'autre part, les anthocyanes sont précipitées facilement par l'acétate de plomb.

Weigert (52) a distingué deux groupes d'anthocyanes en s'appuyant sur la propriété de précipitation de ces corps par les sels de plomb.

a. *Groupe des anthocyanes d'un rouge-vineux.* — L'auteur range dans ce groupe les anthocyanes de *Vitis*, *Ampelopsis*, *Rhus typhina*, *Cornus sanguinea*, et tous les pigments rouges qui

fournissent avec l'acétate basique de plomb un précipité bleugris ou vert bleuâtre, et qui donnent la réaction d'Erdmann. Ces corps deviennent d'un rouge pâle si on les traite par des acides concentrés à froid et prennent avec les alcalis une coloration verte.

b. *Groupe des anthocyanes rouge-Betterave*. — Weigert fait rentrer dans ce groupe les anthocyanes de la Betterave rouge, d'*Amarantus*, d'*Atriplex hortensis*, de *Phytolacca* et toutes les anthocyanes qui fournissent avec l'acétate basique de plomb un précipité rouge et qui ne donnent pas la réaction d'Erdmann ; cette catégorie présente, en outre, les caractères suivants : coloration violet foncé après traitement par l'ammoniaque et par l'acide chlorhydrique concentré et coloration jaune avec la soude ou la potasse.

Entre ces deux groupes, Molisch (33) en distingue un troisième correspondant au rouge des fleurs du *Dianthus Caryophyllus*, lequel n'est pas soluble dans l'alcool. Si on traite ce pigment par l'ammoniaque ou par la potasse, il change très peu de couleur, ne passant ni au bleu ni au vert. Il reste d'un rouge se rapprochant de celui de la Betterave, mais il en diffère parce que, traité par l'acétate basique de plomb, il donne un précipité vert.

On avait été amené, d'après certaines réactions communes présentées par les anthocyanes, à soutenir que les diverses variétés des pigments rouges, violets et bleus, constituent un seul corps. Étant donné, comme on vient de le dire, qu'à côté de propriétés communes il y a des séries de réactions différentes, Overton et Molisch admettent que le terme *anthocyane* désigne un groupe de composés vraisemblablement voisins. Molisch (33) s'exprime de la façon suivante : *La notion d'anthocyane ne représente pas un seul individu chimique, mais elle doit être considérée comme s'appliquant à un groupe de plusieurs combinaisons différentes probablement apparentées entre elles.*

Grafe (13) a pu isoler, dans les pétales d'*Althæa rosea*, deux corps colorés rouges : l'un cristallisé et soluble dans l'alcool absolu, l'autre amorphe, soluble dans l'eau. Enfin Willstätter et ses élèves ont démontré que les pigments

anthocyaniques ont en général la même formule chimique, mais qu'ils diffèrent entre eux par le nombre et la position des groupes hydroxyles qui entrent dans leur molécule.

Nos propres expériences ont montré que, dans l'ensemble des pigments rouges, bleus ou violets, qu'on appelle « anthocyane », il y a, en même temps, plusieurs corps qui ont des propriétés chimiques différentes, mais qui appartiennent à la même classe de substances. Par conséquent, le mot « anthocyane » doit être compris comme un terme collectif qui s'applique à une classe de corps bien définis.

3. — Nature chimique des anthocyanes.

Au point de vue chimique, les anthocyanes sont des corps phénoliques, à propriétés basiques et dépourvus d'azote, qui appartiennent à la classe des glucosides, dont le composant colorant a été reconnu par Willstätter (57) comme dérivé d'un phényl-benzo-pyrylium.

Les premières recherches de Molisch sur la nature chimique des anthocyanes ont été complétées par Grafe, qui, comme nous l'avons dit, a séparé dans des fleurs d'*Althæa* deux corps à l'état solide, dont il a étudié les propriétés chimiques. Plus tard, R. Combes, dans les fleurs vertes d'*Ampelopsis*, a obtenu une substance d'un jaune brun cristallisée, génératrice d'anthocyanes. L'auteur a caractérisé cette substance comme appartenant au groupe des phénol-pyrones.

Ensuite Willstätter et son école ont approfondi l'étude de la chimie des anthocyanes. A la suite de ces recherches, la classe des corps auxquels les anthocyanes peuvent être rapportées a été nettement déterminée, et les formules chimiques ont pu être définies avec plus de précision.

Les diverses anthocyanes ont, en principe, la même constitution chimique. Ce sont des monoglucosides ou des diglucosides, des dérivés β -phényl-benzo- γ -pyrylium, qui diffèrent entre eux par le nombre et la position de divers groupements d'hydroxyles et de méthyles se trouvant dans leur molécule.

Willstätter a choisi le nom d'*anthocyanine* pour le

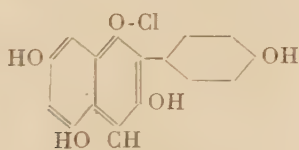
composant glucosidique, et le nom d'*anthocyanidine* pour le composant coloré, dépourvu de sucre. Les anthocyanes donnent avec les acides minéraux et les acides organiques des sels bien cristallisés (sels d'oxonium), dont l'oxygène est tétravalent et appartient à une combinaison quinoïde :



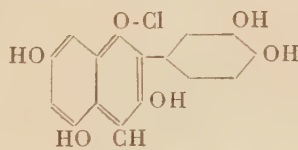
C'est l'oxygène tétravalent qui donne à ces substances leurs propriétés basiques.

Les combinaisons des anthocyanes avec les acides sont rouges ; leurs formes neutres sont violettes. Par leurs hydroxyles phénoliques, ces corps forment avec les alcalis des phénolates bleus.

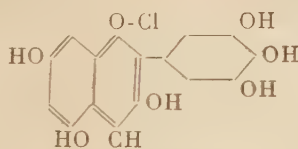
Parmi les anthocyanidines (composants dépourvus de sucre), Willstätter et Mallison (58) en citent trois, plus étudiées et mieux connues jusqu'à présent : la *pélargonidine*, la *cyanidine* et la *delphinidine*, connues seulement sous forme de sels acides et caractérisées respectivement par 1, 2, 3 oxydrides au groupe phényl, comme le montrent les formules suivantes :



Chlorure de *pélargonidine*.



Chlorure de *cyanidine*.



Chlorure de *delphinidine*.

La composition chimique des autres anthocyanidines dérive de ces trois formules par la présence d'un ou plusieurs **méthyles** dans leur molécule.

En solution aqueuse ou alcoolique, la plus grande partie des pigments de ce groupe se décolorent progressivement

au contact de l'air, en se transformant en *pseudo-bases*. Cette décoloration n'est pas due à un phénomène de réduction, comme on l'a cru pendant un certain temps, mais à une *isomérisation*.

Si l'on ajoute à la solution décolorée un acide quelconque, la coloration initiale réapparaît. Les pigments anthocyaniques s'isomérisent aussi dans une solution alcaline.

Au point de vue de l'isomérisation, il existe une différence très nette entre les anthocyanines et les anthocyanidines.

En effet, bien que s'isomérisant l'une et l'autre en une pseudo-base, ces deux types de substances présentent une différence essentielle : pour l'anthocyanine, la coloration apparaît immédiatement quand on ajoute de l'acide à froid, alors que la coloration de l'anthocyanidine ne se produit, sous l'action de l'acide, qu'après *chauffage*.

Les anthocyanines, les anthocyanidines et leurs pseudo-bases existent à l'état libre dans divers organes colorés des végétaux.

Willstätter a indiqué que l'on peut distinguer et séparer ces deux types de corps au moyen de l'alcool amylique ; si les anthocyanines et les anthocyanidines existent mélangées dans une même solution aqueuse et que l'on ajoute de l'alcool amylique, les premières restent dans cette solution, tandis que les secondes passent rapidement et en totalité dans l'alcool amylique.

Les anthocyanidines, à l'état libre, ont été mises en évidence pour la première fois par Willstätter dans certaines variétés de raisins. En 1920, O. Rosenheim (44), dans un travail très documenté, a montré que les anthocyanidines existent aussi, comme composant coloré et à l'état libre, dans les jeunes feuilles rouges de *Vitis vinifera*. Il a pu isoler ce pigment, à l'état cristallisé, en traitant par une solution d'acide chlorhydrique à 1 p. 100 les organes desséchés et pulvérisés.

Si l'on reprend le pigment de cette solution par l'acide chlorhydrique à 3 p. 100, l'anthocyanidine cristallise sous forme d'aiguilles disposées en rosettes.

Nous avons démontré (16) que les anthocyanidines, à

l'état libre, sont beaucoup plus répandues dans les organes rouges des plantes qu'on ne l'avait cru jusqu'alors.

Nous avons constaté leur existence dans les fruits de *Ruscus aculeatus* et de *Solanum Dulcamara*, dans les feuilles rouges de *Prunus Pissardi* et d'*Ampelopsis*, dans les tiges rouges du *Sarrasin* et dans les fleurs de *Pelargonium* et de *Papaver*.

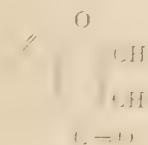
Les pseudo-bases d'anthocyanidines ont été mises en évidence, à l'état libre, par M. Kurt Noack (39) dans les jeunes feuilles rouges de *Polygonum compactum* et dans d'autres plantes. Nos propres expériences ont confirmé les résultats de Kurt Noack ; les pseudo-bases accompagnent, dans la majorité des cas, les anthocyanidines ou les remplacent quand celles-ci ont disparu.

D'autre part, nos expériences ont démontré que les anthocyanidines n'existent pas nécessairement dans les organes qui contiennent de l'anthocyane : elles sont présentes quand la coloration est d'un rouge franc ; elles font complètement défaut quand la coloration est violette ou bleue.

4. — Relations chimiques des anthocyanes avec les flavones et les flavonols.

Tous les pigments appartenant au groupe des anthocyanes sont étroitement apparentés au groupe des substances organiques très répandues chez les végétaux et appartenant à la classe, bien définie au point de vue chimique et physiologique, des flavones et des flavonols.

Les flavones et les flavonols représentent en général des pigments jaunes qui dérivent d'une substance commune, désignée par Block et Kostanecki sous le nom de *chromophore*, et dont la formule chimique renferme un noyau pyrone combiné avec un noyau benzénique :



A ce double noyau benzo- γ -pyrone peut se relier latéralement un nouveau noyau phénolique en constituant ainsi la formule chimique des flavones et flavonols :



Par conséquent les flavones et les flavonols sont des composés hydroxylés, des dérivés β phényl-benzo- γ -pyrone. Les flavones ne contiennent pas d'oxydryle attaché au noyau pyrone; les flavonols en contiennent un. Les dérivés flavoniques, répandus d'une manière très abondante et très variée chez les végétaux, prennent une part très active dans les phénomènes énergétiques; ils sont combinés habituellement aux sucres et surtout au rhamnose en constituant des composés de nature glucosidique. Tous les tissus parenchymateux des feuilles, fleurs, fruits, contiennent des composés flavoniques solubles dans le suc cellulaire; ils se trouvent aussi dans l'écorce et même dans les tissus ligneux des végétaux.

Il y a une relation très étroite entre les pigments rouges, bleus et violets, du groupe des anthocyanes et les dérivés jaunes du groupe des flavones.

Kurt Noack (40) a démontré, dans un récent travail, la large répartition des flavonols chez les végétaux, et leur relation étroite avec les corps du groupe des anthocyanes, en se basant sur certaines réactions communes à ces deux catégories de corps, réactions établies par Willstätter. Il a trouvé que les flavonols existent dans les plantes aussi bien sous forme de glucoside qu'à l'état de composé dépourvu de sucre (aglucone). Il en est de même pour les anthocyanes. Willstätter a établi, au point de vue de la structure chimique, une différence entre les anthocyanes et les flavones ou flavonols; les anthocyanes possèdent toujours dans leur molécule un sel d'oxonium, les flavones ou flavonols n'en présentent pas.

5. — Origine des anthocyanes.

En possession des connaissances ci-dessus sur la nature et les propriétés chimiques des anthocyanes ainsi que sur leurs relations avec les substances voisines, nous pouvons plus facilement aborder le problème de la formation de ces pigments. Nous n'insisterons pas sur les opinions les plus anciennes relatives à la formation des anthocyanes ; nous nous contentons de rappeler très succinctement les théories récentes.

Une première opinion soutenue par beaucoup de physiologistes et de botanistes est que les anthocyanes sont des composés, qui ont leur origine dans la classe mal définie des *tanins*. Les anthocyanes seraient dues, d'après ces auteurs, à l'oxydation de corps tanniques.

Grâce aux récents travaux sur la chimie des anthocyanes, on est arrivé à déterminer exactement les substances aux dépens desquelles se forment ces corps. Willstätter, en comparant les diverses formules chimiques des anthocyanes et des flavones, a émis l'idée que toute anthocyane peut dériver théoriquement d'un flavone.

Palladine (42), dans ses mémoires sur les pigments respiratoires, est d'avis que certains pigments colorés des plantes se forment aux dépens de substances aromatiques de nature glucosidique qu'il a désignés sous le nom de « chromogènes ».

Miss Wheldale (54), la première, a suggéré l'idée que les corps flavoniques sont, dans beaucoup de cas, des chromogènes dont dérivent les anthocyanes. Tous les travaux ultérieurs ont confirmé le point de vue de miss Wheldale, de sorte que l'on considère actuellement les anthocyanes comme des corps dérivant des glucosides flavoniques.

6. — Processus chimique de la formation des anthocyanes.

Les auteurs qui ont étudié le processus chimique de la formation de ces pigments peuvent être divisés en deux caté-

gories : les uns considèrent la transformation des glucosides flavoniques en pigments anthocyaniques comme due à des phénomènes d'*oxydation* ; les autres soutiennent, au contraire, que cette transformation des chromogènes est causée par des phénomènes de *réduction*.

a. *Théorie de l'oxydation*. — L'oxydation des chromogènes en pigments rouges anthocyaniques a été soutenue par beaucoup de physiologistes, qui se sont basés sur diverses observations faites dans la nature. Tous ces auteurs font intervenir dans le processus chimique de l'oxydation trois éléments : 1° *un corps facilement oxydable, le chromogène* ; 2° *la présence de l'oxygène* ; 3° *l'existence d'une diastase qui fixe l'oxygène sur le chromogène*.

Palladine est l'un des premiers savants qui aient attribué la formation des pigments anthocyaniques à l'oxydation d'un chromogène. Cet auteur admet que les divers chromogènes de nature glucosidique existant dans les tissus végétaux sont transformés par l'oxygène de l'air, grâce à l'action d'une oxydase, en pigments colorés qu'il considère comme *pigments respiratoires*. Il soutient même que le chromogène n'existe pas à l'état libre, dans tous les organes des végétaux, mais à l'état d'un *prochromogène* qui est d'abord transformé en chromogène par un phénomène d'hydrolyse ; ce chromogène est enfin oxydé pour donner naissance aux pigments respiratoires.

Le phénomène peut être représenté ainsi :

Prochromogène + eau = chromogène + sucre.

Chromogène + oxygène = pigment respiratoire (anthocyane).

Miss Wheldale (55), à la suite de beaucoup d'observations et d'expériences, a été conduite aussi à admettre que les anthocyanes se forment par oxydation. Elle pense également qu'un glucoside flavonique est transformé en anthocyane par l'action d'une oxydase. Elle appuie cette opinion sur des expériences de croisement faites avec deux variétés d'*Antirrhinum* : une *blanche* et une *ivoire*. Par un tel croisement l'auteur a obtenu des pieds d'*Antirrhinum* à fleurs d'un *rouge-Magenta*. Le pigment rouge résulte, d'après cet auteur, de

l'action oxydante des fleurs blanches sur le glucoside flavonique contenu dans la variété ivoire. Une action semblable se passerait dans tous les organes chez lesquels on constate la présence des glucosides flavoniques et la formation de pigments anthocyaniques. Pour mieux préciser ces réactions, l'auteur exprime le phénomène par la formule suivante :

1. Glucoside + eau $\rightleftharpoons$ chromogène (flavone) + sucre.
2. X (Chromogène) + oxygène $\longrightarrow$ anthocyanine.

Miss Wheldale fait aussi intervenir, dans ces phénomènes, d'abord l'action hydrolysante d'une diastase dans la première réaction, qui scinde le glucoside, et ensuite celle d'une diastase oxydante dans la seconde, qui aboutit à la formation du produit glucosidique final, l'anthocyanine. Keeble, Armstrong et Jones (23) pensent aussi que l'anthocyane se forme par l'oxydation d'un chromogène sous l'influence d'une oxydase. Pour mettre en évidence la présence d'oxydases, les deux premiers auteurs ont employé la méthode suivante : dans une solution alcoolique diluée de benzidine ou dans une solution faible de α -naphtol, ils ont placé des coupes microscopiques de végétaux, et ils ont constaté, par des modifications de colorations, que tous les tissus qui contenaient des anthocyanes contenaient également des oxydases. Ils ont expérimenté sur les fleurs de *Primula sinensis*, *Dianthus barbatus*, *Geranium sanguineum*, dans lesquelles ils ont constaté cette coïncidence frappante de la présence simultanée des oxydases et du pigment anthocyanique. Ils concluent de leurs travaux que la formation des anthocyanes est due à un chromogène qui est transformé en pigment rouge par des oxydases. Ces auteurs expliquent même l'albinisme de certaines variétés des fleurs citées ci-dessus par l'absence des oxydases dans les tissus. Jones ajoute que l'albinisme de certaines fleurs peut être dû aussi à l'absence du chromogène dans les cellules.

Tout récemment Kozłowski (27) a réussi à transformer par oxydation, en pigments rouges qui présentent les caractères des anthocyanes, les chromogènes incolores de *Beta vulgaris* et *Beta maritima*. Après l'extraction de ces chromo-

gènes, l'auteur les a soumis à l'action oxydante de l'acide sulfurique en présence du bioxyde de manganèse et à une température de 40°. Les chromogènes, au bout de quelque temps d'oxydation, commencent à devenir successivement jaunes, brunâtres, roses, rouges et enfin pourpres et violets. L'auteur conclut de ses recherches que, dans la nature, la transformation des chromogènes en anthocyanes est due à la même succession de phénomènes chimiques que dans ses expériences.

En même temps que Kozłowski, nous (17) avons transformé en pigments rouges anthocyaniques, également par oxydation, les chromogènes des fleurs incolores de *Cobaea scandens*, des plantules étiolées de Blé de Bordeaux et des feuilles vertes d'*Ampelopsis hederacea*. Les pigments que nous avons obtenus par oxydation des chromogènes présentaient les mêmes colorations nuancées de rose ou violet que les pigments naturels de chaque espèce.

Nous avons réussi plus tard à obtenir de semblables pigments colorés, sans chauffer, mais en employant comme agent oxydant un mélange de peroxyde de baryum et de bioxyde de manganèse.

Enfin, dans des expériences faites sur les pigments jaune verdâtre de *Medicago falcata* (18), nous avons transformé ces chromogènes en pigments violets anthocyaniques identiques aux pigments violets naturels de cette même espèce, en faisant agir sur ces chromogènes une oxydase extraite d'un champignon, le *Russula delica*. Nous avons étudié les propriétés chimiques de ces corps jaunes susceptibles de s'oxyder, et nous sommes arrivés à la conclusion qu'ils font partie de la classe des flavones, dont ils présentent toutes les réactions.

Dans tous les cas exposés sur la formation de l'anthocyane par oxydation, la présence de l'oxygène est nécessaire dans les tissus pour que les pigments s'y développent.

Katic (22) a montré la nécessité de l'oxygène dans les phénomènes de rougissement. En cultivant différentes feuilles de plantes dans des solutions nutritives et dans une atmosphère dépourvue d'oxygène, il a constaté que les pigments

anthocyaniques ne se forment pas, tandis que des feuilles témoins, cultivées dans les mêmes conditions, mais en présence de l'oxygène de l'air, développent très facilement des pigments rouges.

Molliard (34) a aussi démontré que la présence de l'oxygène, dans la formation des anthocyanes, est absolument indispensable. Il a cultivé des radis dans des milieux nutritifs et a constaté que le rougissement ne se produisait pas chez ceux dont les racines étaient totalement immergées dans la solution, milieu dans lequel l'oxygène faisait défaut.

Enfin R. Combes (8), en étudiant comparativement les échanges gazeux dans les feuilles rouges et dans les feuilles vertes de diverses espèces de plantes, a démontré que les feuilles rouges absorbent plus d'oxygène pendant le processus de leur rougissement que les feuilles vertes ; au contraire, il a constaté une diminution plus accentuée de la quantité d'oxygène chez les feuilles rouges pendant la disparition de l'anthocyane que chez les feuilles normales.

b. *Théorie de la réduction.* — Contrairement à l'opinion précédente, certains auteurs ont essayé d'expliquer le processus chimique de la formation des anthocyanes par un phénomène de réduction des chromogènes. Cette théorie, qui se base entièrement sur des expériences chimiques, est soutenue par la plupart des chercheurs qui se sont occupés de la chimie des anthocyanes.

Keeble, Armstrong et Jones (24) ont obtenu, les premiers, des pigments rouge pourpre qui présentaient les réactions des anthocyanes, en réduisant des extraits alcooliques de diverses plantes par l'hydrogène naissant. C'est pour cela qu'ils ont admis la nécessité d'une réduction préliminaire avant qu'un phénomène d'oxydation transformât les chromogènes en pigments rouges.

R. Combes (7), après une série d'expériences faites sur diverses plantes, s'est joint aux partisans de la formation des anthocyanes par réduction. Cet auteur a isolé des feuilles vertes d'*Ampelopsis* un pigment jaune brun, cristallisé en aiguilles, qu'il a caractérisé comme appartenant au groupe des corps phéno-, -pyrones. Le pigment, dissous dans l'alcool

et additionné d'acide chlorhydrique, a été traité par l'amalgame de sodium pour être réduit sous l'influence de l'hydrogène naissant. R. Combes a constaté que la solution alcool-acide du pigment commençait à devenir rose rouge pour acquérir, au bout de quelque temps, une forte coloration rouge pourpre. Après la neutralisation de l'acide et l'évaporation de la solution, il a obtenu un pigment rouge pourpre cristallisé aussi en aiguilles et qu'il a identifié à une anthocyane. D'autre part, l'auteur a extrait un pigment rouge pourpre anthocyanique des feuilles rouges de la même plante, et il l'a transformé en un pigment jaune brun, sous l'action de l'eau oxygénée. Ce pigment est semblable à celui extrait des feuilles vertes qui lui avait servi comme générateur d'anthocyane.

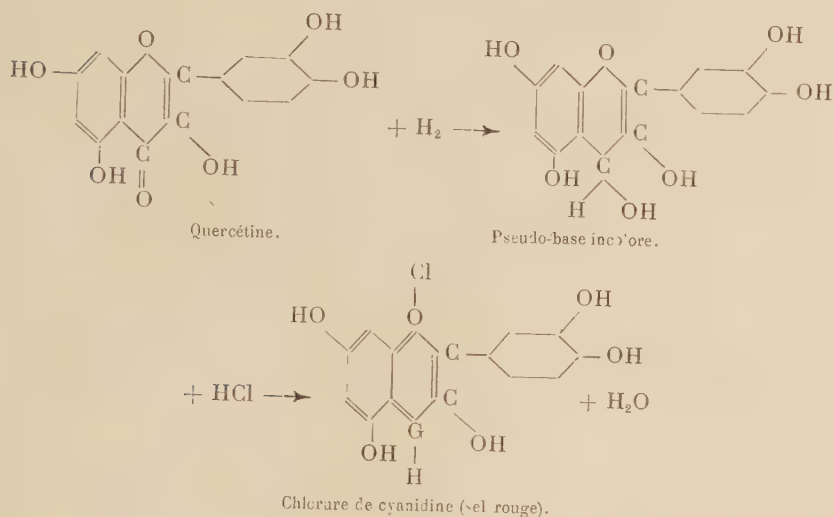
De toutes ces expériences, R. Combes conclut que les phénomènes qui ont pour résultat la formation des anthocyanes ne sont pas des oxydations, mais des réductions.

Miss Wheldale objecte que, dans ce travail, la preuve n'est pas faite que l'auteur opère sur des anthocyanes pures, entièrement privées de flavones, et elle a constaté que les cristaux de ces derniers corps, lorsqu'ils se forment dans un mélange d'anthocyanes et de flavones, prennent la coloration des anthocyanes.

Everest (41), en employant une méthode de réduction plus compliquée, a transformé des pigments jaunes flavoniques, extraits de diverses plantes, en pigments rouges, qui donnent quelques-unes des réactions des anthocyanes. Ces pigments artificiels, obtenus par réduction à froid, se présentent comme des anthocyanines et, par hydrolyse, donnent des anthocyanidines.

Willstätter (56) et ses collaborateurs ont abordé d'une manière plus approfondie la formation de l'anthocyane par réduction. En traitant la quercétine, dissoute dans l'alcool, par l'acide chlorhydrique et par l'amalgame de sodium, en présence d'un gramme de magnésium, ils ont obtenu un produit instable, qu'ils ont dénommé *allocyanidine*, et un produit accessoire, qui est beaucoup plus stable et qu'on a identifié avec la cyanidine.

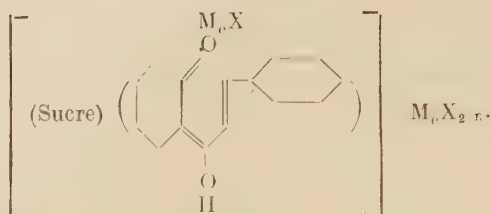
Voici, d'après ces auteurs, les réactions chimiques qui se passent pendant la réduction de la quercétine en cyanidine :



Sans nier les résultats des travaux de Willstätter, Miss Wheldale fait remarquer qu'il n'est pas prouvé que, malgré de grandes ressemblances chimiques, le produit obtenu en partant de la quercétine soit identique à la cyanidine naturelle, et qu'en tout cas il ne semble pas démontré que ce processus de réduction soit celui qui se produit dans la nature.

Terminons en citant l'opinion de Shibata et Kasiwagi (45). Ces auteurs sont aussi d'avis que les anthocyanes dérivent des composés phénoliques, par réduction, mais ils mettent en doute l'existence*des pigments sous les formes de sels acides, neutres ou basiques, proposés par Willstätter et Everest. Ils expliquent les diverses colorations des anthocyanes par la combinaison des divers glucosides flavoniques réduits avec des sels complexes organo-métalliques de calcium et de magnésium, sels qui se trouvent toujours dans les tissus des plantes et qui sont les facteurs les plus importants dans la production des couleurs.

Ils schématisent leur idée par la formule ci-jointe :



Pour concilier la théorie de la formation des anthocyanes par réduction avec la présence en plus grande quantité de l'oxygène dans les organes qui rougissent, divers auteurs ont émis l'opinion que l'action de l'oxygène est indirecte. R. Combes, Nicolas (38) partagent cette manière de voir.

Nicolas explique de cette façon l'action de l'oxygène :

« La relation évidente qui existe entre la production de l'anthocyane et les oxydations respiratoires est donc indirecte. L'oxygène, fixé en plus grande quantité pendant le rougissement, ne se porte pas sur les générateurs des anthocyanes, puisque celles-ci résultent d'une action réductrice, mais sur d'autres substances, probablement les hydrates de carbone, qui, incomplètement oxydés, fourniraient des acides organiques. »

Il semble cependant assez difficile d'admettre que, parmi l'ensemble des substances coexistant dans les tissus qui rougissent, certaines seraient capables de fixer l'oxygène, tandis que d'autres, analogues, ne le seraient pas.

Par conséquent l'explication de Nicolas est une simple hypothèse qui ne repose sur aucun fait précis ou expérience déterminée.

Tous les travaux cités ci-dessus relativement à la théorie de la réduction sont d'ordre purement chimique et s'écartent beaucoup des conditions naturelles, dans lesquelles se produit, chez les plantes, le phénomène du rougissement. Au contraire, la théorie de l'oxydation que nous avons vue, appuyée, elle aussi, par diverses expériences faites dans les laboratoires sur les chromogènes des plantes, a de plus en sa faveur de nombreux faits observés dans la nature même, et par suite nous semble expliquer avec plus de vraisemblance le mode de formation des pigments anthocyaniques.

7. — Influence de divers facteurs internes et externes sur la formation des anthocyanes.

L'apparition des anthocyanes dans les tissus des végétaux dépend d'une série de facteurs internes et externes.

Parmi les facteurs internes, on a cité les suivants comme les plus importants : les sucres, les acides et certaines autres substances, la phloroglucine (Czartkowski) ou divers sels organo-métalliques (Shibata).

Nous discuterons plus loin le rôle des sucres dans la formation des anthocyanes; nous avons déjà signalé les opinions émises sur l'existence et le rôle des acides dans la production de ces pigments, ainsi que l'influence de quelques sels métalliques.

Nous allons nous occuper maintenant de l'influence des facteurs externes.

a. *Lumière*. — Déjà, depuis longtemps, Sachs et plus tard Askenasy ont démontré l'influence de ce facteur sur la production des colorations chez les végétaux. Les nombreuses observations faites dans la nature font voir que les plantes cultivées en pleine lumière développent, en général, des pigments anthocyaniques, et ordinairement les parties les plus colorées sont celles qui sont le plus exposées à la lumière. Les diverses et nombreuses expériences antérieures et celles plus récentes de Molliard et de Mirande confirment ces observations. Molliard (35) a constaté, en expérimentant sur une variété habituellement blanche de *Papaver somniferum*, que les pétales exposés à la lumière développaient des colorations assez vives. Cet auteur a remarqué que les pigments anthocyaniques apparaissaient avec plus d'intensité dans les parties des pétales les plus éclairées, tandis que dans celles qui restaient protégées vis-à-vis de la lumière directe par les sépales les colorations ne se produisaient pas.

Mirande (31) démontre, dans une note tout à fait récente, l'influence de l'intensité et de la réfrangibilité de la lumière sur la formation de l'anthocyane.

Bien que l'influence de la lumière paraisse être générale-

ment nécessaire à l'apparition de l'anthocyane, il y a, cependant, des plantes qui développent de ces pigments même à l'obscurité ; c'est en particulier le cas des divers organes souterrains où l'anthocyane se trouve abondamment (Bette-rave, Radis, etc.).

b. *Température.* — D'après les observations de divers auteurs, ce facteur a un rôle important dans l'apparition des colorations chez les végétaux. On a constaté, en général, que la formation des pigments anthocyaniques est favorisée par une basse température ; les colorations rouges autom-nales et celles produites pendant l'hiver sont dues à l'influence du froid exercée sur les plantes.

Il semble, au contraire, qu'une chaleur trop élevée empê-cherait la production de tels pigments. Klebs (25) a remarqué que les fleurs de *Campanula* et de *Primula* restent souvent blanches, quand les plantes sont cultivées dans les serres chaudes, tandis que les mêmes espèces portent des fleurs colorées lorsqu'on les cultive dans un milieu plus froid.

Dans les phénomènes de colorations observés sur le Sar-rasin, nous avons constaté que les échantillons étiolés exposés pendant l'été, quand il faisait chaud, à un fort éclaircissement, ne rougissaient point, tandis qu'à une température modérée les colorations rouge vif se produisaient rapidement.

L'influence de la température sur l'apparition des antho-cyanes a été considérée comme un facteur indirect. Une basse température retarderait la croissance des plantes et empêcherait la circulation des substances nutritives ; il en résulterait une concentration, dans le suc cellulaire, des substances hydrocarbonées, qui, comme on le sait, favo-risent la formation des anthocyanes.

G. Bonnier (5) et Flahault (5) ont constaté en Nor-vège, par des mesures comparatives, l'augmentation des pigments floraux chez les mêmes espèces, aux hautes lati-tudes, mais cependant au sud du cercle polaire.

Bonnier (3), dans des observations et expériences compara-tives, à des altitudes de plus de 2000 mètres et dans des plaines, a constaté que la coloration est plus intense chez les plantes de hautes altitudes que chez celles de plaines. Cet

auteur a remarqué principalement que les plantes alpines offrent un très intéressant exemple au point de vue de l'apparition et de variations de coloration. Dans les régions alpines, où il y a une alternance d'éclairement intense pendant le jour et d'une basse température pendant la nuit, les colorations des plantes sont plus intenses que dans la plaine.

Dernièrement Bouget (6), dans une série d'observations et d'expériences, confirme et précise l'existence d'un optimum d'altitude pour la coloration des végétaux, comme l'avait déjà indiqué l'auteur précédent.

c. *État hygrométrique.* — Enfin, parmi les facteurs extérieurs qui peuvent favoriser la formation des anthocyanes, on cite encore la sécheresse.

Les expériences de Molisch sur des plantes peu arrosées ou celles d'Eberhardt faites dans une atmosphère très sèche ont montré que les plantes forment rapidement et très abondamment des pigments anthocyaniques. Gain a constaté que les tubercules rouges de Pommes de terre et ceux de Topinambour contiennent d'autant plus d'anthocyane que ces tubercules se produisent dans un sol plus sec. Enfin on a observé que les feuilles de certains arbres tropicaux acquièrent des colorations d'un rouge plus vif pendant la saison sèche.

Le milieu sec agirait aussi d'une manière indirecte. Le contenu cellulaire des plantes cultivées dans un tel milieu est toujours plus concentré que celui d'une plante vivant dans un milieu humide. La concentration du suc cellulaire favoriserait donc la formation de l'anthocyane. Il y a aussi des plantes qui vivent dans des régions humides et qui développent malgré cela des pigments anthocyaniques en quantité.

En somme, il ne faut pas attribuer à un seul facteur isolé une influence déterminée et décisive dans la production des anthocyanes; mais l'apparition de ces pigments est due à un ensemble de facteurs internes et externes qui agissent simultanément sur des substances génératrices d'anthocyanes.

8. — Rôle des anthocyanes.

Les opinions des savants sur le rôle des pigments anthocyaniques sont très partagées.

Beaucoup d'auteurs ont attribué aux colorations des fruits et des fleurs un rôle biologique.

Pour les fruits colorés, les anthocyanes auraient un rôle d'attraction vis-à-vis de divers Oiseaux qui recherchent ces fruits avec avidité. Les Oiseaux transportent de tels fruits dans des régions éloignées, où, après avoir mangé la partie charnue du fruit, ils laissent les graines qui, tombant sur un terrain favorable, donnent naissance à de nouvelles plantes. Par conséquent, les colorations des fruits joueraient un rôle important dans la dissémination des graines.

Toujours d'après ces auteurs, les colorations vives des fleurs seraient aussi un puissant moyen d'attraction pour divers insectes, qui cherchent le nectar leur servant de nourriture. Ce serait précisément dans ce but que les colorations des fleurs se seraient formées. Les insectes seraient même dispensés de visiter toutes les fleurs, parce que les colorations vives et variées de celles qui les possèdent seraient un indice certain de la présence du nectar. En passant d'une fleur à l'autre, ces insectes produiraient la pollinisation, qui autrement n'aurait pas lieu.

Mais cette hypothèse, si séduisante par sa conception finaliste, a été démontrée comme complètement dénuée de tout fondement scientifique par Gaston Bonnier (4). Cet éminent botaniste a prouvé, par de nombreuses expériences, que les colorations des fleurs ne jouent absolument aucun rôle dans l'attraction des insectes, car ceux-ci visitent aussi bien les fleurs vertes et celles d'une coloration moins vive que les fleurs dont les couleurs sont les plus intenses; il y a même de nombreux cas où les insectes laissent de côté des fleurs très colorées. Ce que cherchent les insectes mellifères, c'est du nectar, et ce produit n'est en rien lié à la coloration des fleurs.

Si, au point de vue biologique, les explications données

sur le rôle des anthocyanes sont complètement insuffisantes et ne correspondent pas à la réalité, au point de vue physiologique, les interprétations fournies, quoique fondées quelquefois sur des faits scientifiques, ne sont pas suffisantes non plus pour éclaircir le rôle que ces pigments jouent dans la vie des plantes.

Examinons très brièvement les opinions émises jusqu'à présent.

a. *Rôle protecteur des anthocyanes vis-à-vis de la chlorophylle contre une lumière trop intense. Théorie de l'écran.* — Pringsheim, dans un travail sur la lumière et la fonction de la chlorophylle chez les plantes, a émis l'opinion que la lumière blanche, d'une intensité trop forte, détruirait la chlorophylle, tandis que la lumière rouge n'aurait pas un effet nuisible sur les chloroplastes. De ses expériences, l'auteur conclut que les rayons rouges sont inactifs ou très légèrement actifs sur les cellules des plantes. Les recherches de Pringsheim ont servi de point de départ aux travaux ultérieurs sur le rôle d'écran qu'on a attribué aux anthocyanes.

Kerner, en s'appuyant sur les recherches du premier auteur, a cherché à interpréter l'apparition de l'anthocyane dans différents organes comme un agent protecteur contre une lumière trop intense. Pour cet auteur, le rougissement des tiges et des pétioles de certaines plantes a pour rôle d'empêcher une lumière trop intense de décomposer les substances nutritives qui y circulent. Ce serait dans le même but que le pigment rouge se forme dans les jeunes feuilles et dans celles qui se colorent en automne. Enfin, Kerner explique la formation de l'anthocyane sur la face inférieure des feuilles non pas comme ayant un rôle protecteur, mais il admet, sans le prouver, que le pigment absorberait la lumière pour la convertir en chaleur, ce qui facilite la croissance des végétaux, la transformation et la migration des substances nutritives. Ce physiologiste appuie, en outre, indirectement ses opinions sur deux faits observés dans la nature : d'une part, la présence des poils sur les feuilles et les tiges de quelques plantes chez lesquelles l'anthocyane ne se forme pas; les plantes présentant cette particularité n'auraient pas besoin de former

de l'anthocyane, car les poils protègent les cellules contre une lumière trop intense ; d'autre part, le *Satureia hortensis*, plante de la région méditerranéenne, cultivé à l'ombre, est verte ; au contraire, exposé au soleil, ses tiges et ses feuilles deviennent violet foncé. Kerner a cultivé cette plante dans son jardin alpin du Tyrol, à une altitude de 2195 mètres, et il a constaté, après les observations d'Overton, que, dans ces conditions, l'anthocyane se développait en abondance. L'auteur pense que l'exemple du *Satureia* est un cas d'adaptation que présentent les plantes capables de former de l'anthocyane.

Kny, pour montrer l'efficacité de l'anthocyane comme écran protecteur de la chlorophylle, place comparativement une solution de chlorophylle derrière des vases à faces parallèles remplis respectivement d'une solution de pigment rouge et d'une solution d'extrait de Betterave blanche. Il constate que la chlorophylle placée derrière l'anthocyane conserve plus longtemps sa couleur verte que celle placée derrière l'extrait incolore. L'auteur croit avoir prouvé, par cette expérience, l'efficacité du pigment rouge comme écran protecteur.

Keeble, à la suite de mesures de températures faites sur de jeunes feuilles vertes et rouges d'*Amherstia*, arrive à cette conclusion que la matière colorante rouge a non seulement le rôle d'un écran protecteur pour la chlorophylle, mais aussi la propriété d'éviter une forte insolation aux jeunes feuilles. Wiesner a interprété de la même manière de nombreuses observations et expériences.

Ewart, dans des observations faites sur les feuilles des plantes qui se développent de préférence à l'ombre, a constaté, lorsqu'il exposait ces feuilles à une forte lumière, un temps assez long, que la photosynthèse était ralentie. Il croit donc que la formation de l'anthocyane dans les organes exposés à la lumière est une adaptation pour éviter aux organes l'effet nuisible d'une forte intensité lumineuse plutôt qu'une protection contre la destruction de la chlorophylle.

Beaucoup de physiologistes ont fait des objections sérieuses à cette théorie de l'écran, en démontrant qu'une telle expli-

cation ne correspond pas rigoureusement aux faits scientifiques.

Reinke, à la suite de ses expériences faites sur des feuilles rouges et des feuilles vertes exposées à une intensité de lumière artificielle de huit cents à mille fois plus forte que celle des rayons solaires, constata que ni le pigment chlorophyllien, ni le pigment rouge ne furent décolorés. Enfin plus tard, le même auteur, dans des expériences où il étudiait l'effet de diverses radiations du spectre sur la destruction de la chlorophylle, trouva que les radiations rouges qui sont les plus nuisibles sont en même temps les plus absorbées par la chlorophylle. Ces constatations de Reinke sont, on le voit, tout à fait contraires à la théorie de l'écran.

Enfin, Engelmann a montré que le spectre d'absorption du pigment anthocyannique extrait des feuilles rouges est complémentaire de celui de la chlorophylle.

Ces faits ne permettent évidemment plus de considérer l'anthocyane comme un écran protecteur de la chlorophylle.

b. *Rôle des anthocyanes dans l'élévation de la température.* — *Théorie de Stahl.* — C'est d'abord Kerner, comme nous l'avons vu, qui a émis l'hypothèse de l'élévation de la température chez les organes, où se forment les anthocyanes. Les travaux ultérieurs de Stahl ont apporté une nouvelle interprétation. Stahl est d'avis que le pigment rouge absorbe certains rayons solaires qui sont transformés en chaleur ; cette chaleur accumulée dans les organes élève la température, ce qui favorise la transpiration des plantes.

Le fait que l'anthocyane absorbe certains rayons solaires qui, après leur conversion en chaleur, augmentent la température des organes, a été mis en évidence par ce botaniste dans de nombreuses mesures. Dans ses expériences exécutées sur les feuilles rouges et les feuilles vertes de *Sarcanthus rostratus*, Stahl trouva que la température des feuilles rouges était de 1°,5 plus élevée que celle des feuilles vertes. Les mêmes résultats furent trouvés chez les *Sempervivum tectorum*, *Begonia heracleifolia*, *Pelargonium peltatum*, etc... L'auteur met aussi en évidence une élévation de température chez les organes rouges des plantes alpines.

Il soutient que ces plantes possèdent, dans le pigment rouge, un moyen d'accélérer les échanges de matières et d'énergie. Le même rôle a été attribué, par Stahl, au rougissement des stigmates des fleurs anémophiles et des feuilles rouges d'automne. Il affirme, en outre, que la large et abondante répartition des anthocyanes chez les plantes des régions marécageuses de notre climat, et surtout des pays tropicaux, est un fait général qui contribue certainement à élever la température interne des organes. Cette température, à son tour, facilite la transpiration rendue si difficile par les conditions d'humidité excessive de cet habitat. Pour illustrer ce fait, il cite beaucoup d'exemples de notre climat, et aussi de ceux des régions tropicales de Bornéo, de Java et du Mexique.

Le rougissement des jeunes feuilles des régions tempérées est attribué, par ce savant, au fait que les pigments anthocyaniques qui accumulent de la chaleur dans les tissus de ces plantes favorisent le processus de métabolisme à des températures basses. C'est, d'ailleurs, la même idée que pour le rougissement des plantes alpines.

L'élévation de température, constatée par Stahl, a été confirmée par des mesures plus précises de Smith. Cet auteur, en employant un appareil thermo-électrique qui présente l'avantage de prendre la température interne des tissus, a fait des mesures comparatives sur des feuilles rouges et des feuilles vertes de divers arbres à Ceylan, sous une insolation tropicale. Il a trouvé que les jeunes feuilles rouge brunâtre d'*Amherstia nobilis* ont une température de 2° plus élevée que les feuilles verdâtres de *Saraca indica*, tandis que les feuilles rouges de *Mesua ferrea* ont une température de 2°,8 plus élevée que celle des feuilles vertes de *Saraca indica*. En faisant les mêmes mesures sur des feuilles vertes et des feuilles blanches chez lesquelles le pigment chlorophyllien ne se développait pas (feuilles de *Cladium*), il a trouvé aussi que la température des feuilles vertes était plus élevée que celle des feuilles blanches. En général, les pigments, soit anthocyaniques, soit chlorophylliens, élèvent la température des organes. Enfin l'auteur a mesuré comparativement la

température des feuilles jeunes et des feuilles plus âgées. Il trouva que les feuilles vertes plus âgées avaient une température plus élevée que les feuilles jeunes de même couleur ; mais quand les feuilles même jeunes contenaient de l'anthocyane, elles avaient, en général, une température voisine de celle des feuilles vertes plus âgées ou même une température plus élevée. Les jeunes feuilles rouges de *Theobroma Cacao* marquaient une température de 30,5 plus élevée que celle des feuilles vertes même plus âgées. La conclusion de l'auteur est que ses résultats confirment les opinions de Stahl et montrent d'une façon définitive que l'anthocyane est un agent élévateur de la température interne chez les organes de ces végétaux.

La théorie de Stahl a été vivement critiquée par Ewart, dont nous avons vu les opinions sur le rôle des anthocyanes. Cet auteur soutient que la chaleur accumulée dans les tissus qui contiennent de l'anthocyane, loin d'être avantageuse, est nuisible, puisqu'elle exagère la transpiration des plantes. Cette objection est peu fondée, car les observations de Stahl se rapportent précisément à des plantes qui vivent dans un milieu très humide et où, par conséquent, une forte transpiration ne peut avoir aucun effet désavantageux.

Quoi qu'il en soit, les observations de Stahl et de Smith autorisent à considérer comme un fait acquis que les pigments anthocyaniques se trouvant dans différents organes des plantes contribuent à élever la température des tissus dans lesquels ils se forment.

c. *Rôle des anthocyanes comme pigments respiratoires. — Théorie de Palladine.* — Nous avons déjà signalé brièvement les opinions de Palladine à l'occasion de la formation des anthocyanes.

Rappelons que Palladine fait rentrer les anthocyanes dans la catégorie des pigments respiratoires qui jouent un rôle très important dans les transformations de substances dans les phénomènes généraux de la vie des végétaux. Les opinions de cet auteur sur la relation des chromogènes respiratoires et la formation des anthocyanes semblent parfaitement justifiées et concordent avec les phénomènes d'oxy-

dation constatés dans les tissus des végétaux. En même temps, Palladine introduit une nouvelle conception de la physiologie des anthocyanes en faisant participer cette catégorie de corps aux processus chimiques des phénomènes vitaux des plantes.

Nous écarterons donc complètement, au sujet du rôle des anthocyanes, les conceptions téléologiques de Kerner et autres, la théorie de l'écran et même la théorie de Stahl.

Les recherches que nous allons exposer confirment pleinement les transformations des anthocyanes dans les phénomènes que nous nous sommes proposé d'étudier. Nous essaierons, dans ce travail, de mettre en évidence, d'après les résultats de nos expériences, la part que les pigments anthocyaniques prennent aux phénomènes énergétiques et d'établir ainsi le rôle le plus probable que ces composés jouent dans la vie des plantes..

II

EXPOSÉ DU SUJET

ET

TECHNIQUE

Pour élucider, autant qu'il est possible, le rôle physiologique des anthocyanes, nous avons suivi dans ce travail une voie différente de celle qui a conduit nos prédécesseurs. Nous nous sommes proposé de rechercher ce que devient le pigment rouge quand les plantes qui en contiennent séjournent quelque temps à l'obscurité.

Dans ce but, nous avons fait germer des graines, et, quand les plantules sont restées quelques jours à l'obscurité, nous les plaçons à la lumière pour les faire devenir rouges. Quand le rougissement est assez fort, nous portons les plantes à l'obscurité pour voir ce que devient le pigment. Nous avons toujours constaté que, dans ces circonstances, la coloration rouge des plantules s'atténue sensiblement.

Il est important de rechercher à quelles modifications chimiques correspond cet affaiblissement de couleur ; c'est pourquoi nous avons soumis les plantules à des analyses chimiques. Ces analyses ont été effectuées sur les plantules, afin de voir s'il y a des rapports entre la disparition des anthocyanes et la quantité des diverses substances hydrocarbonées (sucres réducteurs, sucres non réducteurs, amidons et celluloses) contenues dans les tissus. Ces diverses substances ont été dosées comparativement chez les plantules étiolées comme point de départ, chez les plantules après leur rougissement complet et enfin à diverses reprises, à

mesure que la couleur s'affaiblissait chez les exemplaires replacés à l'obscurité.

1. — Cultures des plantules.

Nous avons expérimenté d'abord sur des plantules de *Sarrasin argenté* et de *Blé de Bordeaux*, puis, pour compléter notre étude, sur des feuilles rouges de *Vigne vierge* et sur des fleurs de *Dahlia*. Voici comment nous avons procédé pour réaliser les expériences.

Nous ensemençons les graines et plaçons les pots dans une chambre noire à la température de 24° environ. A cette température, les graines germent et poussent très bien. Au bout d'une semaine ou de dix jours, les plantules ont déjà une hauteur de 3 à 5 centimètres pour le Blé et de 7 à 10 centimètres pour le Sarrasin. Les plantules complètement étiolées, ainsi obtenues, sont transportées à la lumière. Les axes hypoctylés étiolés du Sarrasin se pigmenter très rapidement.

Dès le soir, c'est-à-dire au bout de huit à dix heures, ils sont déjà rougeâtres. Le lendemain matin, la coloration s'accroît et, au bout de deux jours, elle est d'un *rouge vif*. Les deux cotylédons sont d'un vert teinté de rouge à la face inférieure.

Les plantules étiolées du Blé commencent à rougir au bout de vingt-quatre heures seulement. Si on les regarde le soir du jour de la mise en expérience, on ne constate encore aucun rougissement ; au contraire, la coloration jaunâtre qu'elles possédaient est devenue plus intense. Le lendemain matin, elles présentent une faible coloration *rouge violacé*, qui se renforce au bout de quarante-huit heures ; mais les feuilles qui commencent à se développer sont complètement vertes.

Les plantules ainsi colorées sont replacées à l'obscurité dans une chambre noire, où elles séjournent plusieurs jours, de six à quinze jours en général, et, pour certaines, jusqu'à

vingt et même vingt-cinq jours. Elles sont observées tous les jours pour voir quelles modifications de couleur elles subissent. Après deux ou trois jours de séjour à l'obscurité, la coloration rouge commence à s'atténuer ; après sept à dix jours, elle a sensiblement diminué, et enfin, après quinze à dix-huit jours, elle est devenue très faible sans que jamais elle disparaisse complètement, car la base des tiges présente encore une faible coloration. Ce qu'il y a à remarquer, c'est que la coloration rouge non seulement s'atténue progressivement à l'obscurité, mais qu'elle éprouve une modification spéciale en prenant une teinte un peu noirâtre.

Par conséquent les plantules étiolées qui ne renfermaient aucune trace de pigment rouge, exposées à la lumière, prennent cette coloration dès qu'elles sont éclairées et la présentent très intense après quarante-huit heures seulement de séjour à la lumière. Il est à remarquer que le pigment rouge chez le Blé apparaît mieux, quand il y a un éclaircissement vif, pendant le jour et une température relativement basse pendant la nuit. Ce fait a été mis en évidence pour les plantes rouges de la région alpine par G. Bonnier. Ces conditions sont très bien réalisées pour le Blé pendant l'automne, aux mois de septembre et d'octobre, quand les jours sont très éclairés et les nuits assez froides. Le Sarrasin, au contraire, rougit mieux par un éclaircissement moins intense et à une température modérée.

Le pigment anthocyanique qui se développe s'y trouve en grande quantité ; les analyses chimiques faites sur ces plantules vont nous démontrer ce fait. De même, l'atténuation de la coloration rouge des plantules mises à l'obscurité correspond à une disparition du pigment rouge, comme nous le verrons plus tard, quand nous doserons ce pigment.

2. — Analyses chimiques.

Comme nous l'avons dit plus haut, nous allons montrer maintenant le rapport chimique qui existe entre les anthocyanes et les diverses substances hydrocarbonées. Nous

avons exécuté les analyses sur des *plantes étiolées* qui nous ont servi comme témoins pour les autres, sur les *plantes rouges* à leur maximum de coloration et sur les *plantes qui, après rougissement, ont été remises à l'obscurité* (plantes décolorées).

Les plantules étiolées renferment une importante quantité de glucosides flavoniques, aux dépens desquels se forme l'anthocyane. Ces glucosides sont précipités par l'acétate de plomb rigoureusement neutre (liqueur de Courtonne). C'est à cause de ces glucosides que, dans l'état actuel de nos connaissances, on ne peut pas étudier les glucosides anthocyaniques seuls, lorsqu'on s'occupe du rôle physiologique de ces derniers.

Nous avons donc exécuté des dosages sur : les *glucosides flavoniques* des plantes étiolées, sur l'*ensemble des glucosides anthocyaniques et flavoniques* des plantes rouges, et enfin sur les *sucres réducteurs*, les *sucres non réducteurs*, les *amidon*s et les *celluloses* de toutes les plantes sur lesquelles nous avons expérimenté.

La méthode employée consiste à épuiser les plantules ou les organes qu'on étudie par l'alcool bouillant à 95°. Par ce traitement, on obtient dans l'alcool les glucosides et les divers sucres. Le résidu des organes, après le traitement par l'alcool, est repris par l'acide sulfurique en diverses proportions, puis chauffé à l'autoclave, où se produit l'hydrolyse des amidons et des substances cellulosiques.

Récolte des plantules et leur épuisement par l'alcool. — Les plantules étiolées rouges sont coupées, après suppression des racines, en petits morceaux et immédiatement introduites dans un ballon contenant de l'alcool bouillant à 95°, auquel on a ajouté 250 milligrammes de carbonate de calcium. Cette substance a pour but de saturer les acides, qui sont en grande quantité dans les plantules, et d'empêcher la décomposition de certains composés hydrocarbonés, dont l'hydrolyse est possible en présence des acides et à la température de l'ébullition de l'alcool.

Après un quart d'heure d'ébullition, on laisse l'alcool se refroidir ; on décante, et les fragments sont transvasés

dans un mortier où on les broie de manière que tout est transformé en une pâte très fine. La pâte est reprise par l'alcool et chauffée de nouveau dans le même ballon pendant un quart d'heure. On laisse l'alcool se refroidir, on le décante dans un autre ballon, on ajoute à la substance bouillie de l'alcool frais et on chauffe de nouveau. On fait donc bouillir trois fois de façon à être bien sûr que tous les sucres et les glucosides sont passés dans l'alcool. On réunit l'alcool de ces trois opérations et on le filtre. La substance restée sur le filtre est lavée plusieurs fois avec de l'alcool à 95°, que l'on réunit aux précédents alcools.

Dans le liquide ainsi obtenu se trouvent les *glucosides*, les *sucres réducteurs* et les *sucres non réducteurs*. La substance restée sur le filtre renferme les *amidons* et les *celluloses*.

La quantité de substance fraîche sur laquelle ont porté nos expériences a toujours été de cent trente plantules, dont le poids variait d'après l'âge de chaque série. Pour déterminer le poids sec de la substance fraîche, nous procédons de la manière suivante; nous pesons toujours cinquante échantillons frais qui sont coupés en morceaux et placés dans un flacon à tare. La substance est desséchée à l'étuve à la température de 100° à 105° pendant quarante-huit heures. Connaissant le poids sec de cinquante pieds, on calcule très aisément, par une simple proportion, le poids sec de toute la récolte qui a été préalablement pesée fraîche.

3. — Séparation et dosage des glucosides.

Pour séparer les glucosides, on traite la solution alcoolique par une quantité suffisante de liqueur de Courtonne (acétate de plomb rigoureusement neutre). Les glucosides sont précipités sous forme d'un sel de plomb; 2 centimètres cubes de la liqueur de Courtonne sont suffisants pour précipiter tous les glucosides renfermés dans les cent trente pieds sur lesquels on opère. La solution alcoolique qui contient le précipité glucosidique est bien agitée, puis laissée au repos vingt-quatre heures pour que tous les glucosides se déposent. Pour séparer ces corps, on filtre la solution; sur le filtre restent les

glucosides qui sont bien lavés, trois fois, par l'alcool à 95°. De cette façon, on obtient les glucosides sous forme d'un sel plombique. Après cette opération, on met en suspension le précipité plombique dans 50 centimètres cubes d'acide sulfurique dilué à 7 p. 100. La mise en suspension est faite de la façon suivante : on fait un petit trou dans le filtre et, avec l'eau sulfurique bouillante, on entraîne le précipité dans un flacon d'Erlenmeyer. On bouche bien le flacon avec du coton et enfin on le porte à l'autoclave, où il est chauffé pendant une heure à la température de 120°. Dans ces conditions, les glucosides se scindent en sucres réducteurs et en un composé dépourvu de sucres (anthocyanidines); 7 grammes d'acide sulfurique dans 100 centimètres cubes d'eau représentent la quantité optima d'acide pour hydrolyser la totalité des glucosides dissous dans cette solution. C'est cette même quantité d'acides que Willstätter a utilisée dans ses recherches pour l'extraction de l'anthocyane. Disons cependant que la quantité d'acide peut varier d'après la nature de chaque anthocyane.

Après ce traitement, la liqueur glucosidique est neutralisée exactement par la lessive de soude. Après la neutralisation, la liqueur est filtrée dans un flacon jaugé à 50 centimètres cubes ; on complète le volume avec de l'eau distillée, de façon à avoir juste 50 centimètres cubes de liqueur comme au début de l'hydrolyse. Les glucosides sont intégralement transformés en sucres réducteurs ; il ne reste donc plus qu'à doser ces sucres par la méthode de Gabriel Bertrand et à déduire des résultats la quantité primitive de glucosides.

Cette méthode consiste à faire bouillir des quantités égales (20 centimètres cubes de la solution sucrée, de sulfate de cuivre et de tartrate double de potasse et de soude), pendant trois minutes. Le cuivre est réduit par les sucres, à l'état d'oxydure. L'oxydure est dissous par une solution acide de sulfate ferrique, dans laquelle il passe à l'état de sulfate de cuivre, tandis qu'une proportion correspondante de sel ferrique passe à l'état de sel ferreux. On dose ce dernier avec une solution titrée de permanganate de potassium, et l'on peut, au moyen des tables dressées par Bertrand, calculer

la quantité de cuivre qui a été précipitée, d'où la proportion de sucre correspondante.

En multipliant par 2,5 le résultat obtenu dans le dosage de 20 centimètres cubes du liquide sucré, on obtient la teneur en sucres réducteurs de 50 centimètres cubes, quantité qui correspond à la substance fraîche sur laquelle nous avons opéré. Il faut mentionner que nous avons toujours exprimé les résultats de ces sucres en glucose. Cette quantité de sucres correspond aux glucosides totaux des cent trente échantillons sur lesquels nous avons expérimenté. Connaissant le poids sec de ces plantules, il est très facile de rapporter la quantité de ces corps à 100 grammes de substance sèche, comme il est indiqué dans les tableaux des résultats publiés plus loin.

4. — Séparation et dosage des sucres réducteurs et des sucres non réducteurs.

Après la séparation des glucosides flavoniques et anthocyaniques, la solution alcoolique qui contient les sucres est traitée de la manière suivante pour isoler ces corps.

Il faut d'abord éliminer l'excès d'acétate de plomb qui gênerait les opérations nécessaires pour l'analyse ultérieure des sucres. La séparation du plomb se fait soit par une solution concentrée de carbonate de sodium, soit par un courant gazeux d'acide carbonique ou d'acide sulfhydrique ; le plomb est précipité sous forme de carbonate ou de sulfure de plomb. L'emploi du carbonate de sodium a l'inconvénient de donner de l'acétate de soude, qui gêne pour la séparation des sucres et exige, pour être neutralisé, une opération supplémentaire. Les gaz carbonique ou sulfhydrique n'ont pas cet inconvénient, et, d'autre part, peuvent être facilement éliminés par une simple évaporation s'ils ont été employés en léger excès. Aussi avons-nous de préférence employé des courants gazeux dans la liqueur alcoolique.

Par ce traitement, le plomb est précipité complètement, et l'on s'en débarrasse par le filtrage de la solution alcoolique. On reconnaît très facilement l'instant où tout le plomb

est précipité, c'est au moment où, en ajoutant, après filtration, à la solution alcoolique une goutte d'acide sulfurique dilué, il ne se forme plus de précipité. On lave plusieurs fois le précipité avec de l'alcool frais pour être bien sûr qu'il ne contient plus aucune trace de sucres.

La solution alcoolique, débarrassée du plomb par filtration, est soumise à une distillation dans le vide à une basse température qui ne doit pas dépasser 60° à 62° pour ne pas détruire les sucres. Il est même préférable de n'opérer qu'à 50° environ ; c'est ce que nous avons fait dans tout le cours de nos recherches. On réduit par distillation le volume du liquide jusqu'à 30 centimètres cubes environ. Il se dépose sur le fond du ballon un résidu sirupeux, sucré, qui est repris immédiatement après distillation par une petite quantité d'eau bouillante. On filtre et on lave encore le ballon avec de l'eau bouillante, on recueille la solution filtrée dans une fiole jaugée à 100 centimètres cubes, et on complète avec de l'eau distillée jusqu'au trait qui indique ce volume. Cette liqueur contient l'intégralité des sucres que renferment les plantules soumises à l'expérience.

La solution aqueuse sucrée est divisée en deux volumes égaux de 50 centimètres cubes. Sur l'une des portions on opère le dosage des sucres réducteurs d'après la méthode de Bertrand. Le résultat obtenu dans le dosage de 20 centimètres cubes du liquide sucré multiplié par 5 nous donne la teneur en sucres réducteurs de 100 centimètres cubes de solution sucrée ; on calcule ensuite la teneur rapportée à 100 grammes de substance fraîche.

Sur l'autre portion nous avons fait l'hydrolyse des sucres non réducteurs. Les 50 centimètres cubes sont traités par 500 milligrammes d'invertine, préparée suivant le procédé indiqué par Bourquelot, et nous avons ajouté 500 milligrammes de fluorure de sodium : par conséquent, les proportions d'invertine et de fluorure sont donc de 1 p. 100.

Le fluorure de sodium a la propriété de créer un milieu défavorable aux bactéries qui pourraient se développer dans la solution sucrée. La liqueur ainsi préparée est mise dans

un flacon d'Erlenmeyer bien bouché avec du coton et porté dans une étuve à 50°-55° C. pendant quatre jours. Au bout de ce temps, tous les sucres non réducteurs sont hydrolysés et transformés en sucres réducteurs. Après filtration, on opère le dosage de la même façon que précédemment.

Cette dernière analyse nous donne évidemment à la fois les deux sortes de sucres : réducteurs et non réducteurs ; nous ramenons cette quantité à ce qu'elle est pour 100 centimètres cubes. Si l'on en retranche la quantité de sucres réducteurs trouvés dans la première analyse, le reste représente les sucres non réducteurs, dont la quantité est exprimée en saccharose.

5. — Dosage des amidons et des celluloses.

La pâte, constituée par les plantules fraîches broyées, qui est restée sur le filtre après l'extraction des glucosides et des sucres, est traitée comme il suit pour isoler l'amidon et les celluloses. Cette pâte est mise dans un ballon, additionnée de 100 centimètres cubes d'acide sulfurique à 2,5 p. 100 portée à l'autoclave à 120° pendant une heure. L'amidon et diverses autres substances facilement hydrolysables : gommes, mucilages, etc., sont transformées en sucres réducteurs. On agite le ballon pour mettre en suspension le mélange, on jette le tout sur un filtre et on lave soigneusement à l'eau bouillante pour que tout le contenu sucré passe bien dans la liqueur filtrée. Cette liqueur est neutralisée par une solution de soude à 20 p. 100.

On procède toujours au dosage des sucres par la même méthode.

6. — Dosage des celluloses.

La poudre restée sur le filtre contient les celluloses qui, étant plus difficilement hydrolysables, ont résisté au traitement par l'acide sulfurique à 2,5 p. 100. Pour les transformer, il faut les chauffer dans un autoclave à 120° pendant une heure avec de l'acide sulfurique à 10 p. 100. Après filtration

et neutralisation par la soude, on dose les sucres obtenus qui correspondent, d'une façon générale, à toutes les celluloses.

Dans l'analyse des amidons et des celluloses, le résultat obtenu par le dosage de 20 centimètres cubes de liqueur sucrée est multiplié toujours par 5, de façon à obtenir la quantité totale de sucres renfermés dans les 100 centimètres cubes de liqueur préparée avec la quantité totale des plantes fraîches prises comme sujet d'étude.

Avant d'exposer les résultats de nos analyses, nous devons faire une remarque importante relativement à la méthode précédente.

Les chauffages répétés dans l'extraction des sucres et des glucosides ont pour effet de détruire une certaine proportion de ces substances. Nous indiquerons plus loin une méthode plus rigoureuse d'extraction ; mais comme, ici, la même méthode a toujours été employée dans les analyses des divers lots de plantes soumises aux conditions précédemment indiquées, ces analyses sont comparables et permettent des conclusions justifiées.

Ces conclusions portent, dès lors, non sur les quantités absolues des corps analysés, mais sur leur rapport dans les plantes étiolées, les plantes colorées à la lumière et les plantes remises ensuite à l'obscurité.

Ajoutons que chacun des mots : glucoside, sucre, amidon, cellulose n'indique pas un seul corps chimique, mais une catégorie de substances ayant des propriétés chimiques générales communes.

Notre travail a seulement pour but d'étudier les relations des glucosides anthocyaniques avec les substances hydrocarbonées, dont le rôle physiologique est bien connu, et par là de jeter quelque lumière sur le rôle de ces glucosides eux-mêmes et sur celui des divers pigments anthocyaniques qui en dérivent.

III

EXPOSÉ DES RÉSULTATS

Exposons d'abord en détail une expérience afin de compléter les indications générales données sur les dosages des glucosides, des sucres, des amidons et des celluloses. Cette expérience permet de déterminer la quantité de ces corps rapportée à 100 grammes de substance fraîche et de substance sèche.

Le poids frais de cent trente plantules de Sarrasin est par exemple de 11^{gr},775 ; leur poids sec est de 2^{gr},084.

CALCUL DES GLUCOSIDES.

Les glucosides flavoniques provenant du Sarrasin traités par l'acétate neutre de plomb donnent un abondant précipité d'une teinte jaune clair. Cette teinte est au contraire d'un jaune foncé pour le Blé. Après l'hydrolyse par la solution aqueuse d'acide sulfurique à 120° dans l'autoclave, les glucosides présentent une coloration rouge foncé avec le Sarrasin et jaune avec le Blé.

Dans 50 centimètres cubes de la liqueur, nous avons trouvé 42 milligrammes de glucosides, qui correspondent donc à 2^{gr},084 de substance sèche et à 11^{gr},775 de substance fraîche.

Il en résulte qu'il y a 2^{gr},015 de glucosides flavoniques par 100 grammes de substance sèche et 0^{gr},356 par 100 grammes de substance fraîche.

Les mêmes calculs sont faits pour les sucres, amidons et celluloses.

Citons maintenant quelques expériences et les résultats que l'on en peut déduire.

1. — Plantules étiolées à l'obscurité.

Expérience du 15 juillet 1920.

L'expérience porte sur des plantules étiolées de Sarrasin argenté (*Polygonum fagopyrum*) et de Blé de Bordeaux.

Les plantules de Sarrasin sont récoltées après sept jours de germination, celles de Blé après huit jours.

Les résultats obtenus dans les dosages successifs rapportés, d'une part à 100 grammes de substance fraîche et, d'autre part, à 100 grammes de substance sèche, sont reproduits dans le tableau suivant, dont la dernière colonne donne le total tant des sucres proprement dits que de ceux résultant de l'hydrolyse des autres substances hydrocarbonées.

	GLUCOSIDES flavoniques.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin argenté :</i>						
100 grammes substance fraîche	0,356	0,878	0,182	4,093	0,424	5,933
100 grammes substance sèche	2,015	4,966	1,031	23,141	2,400	33,553
<i>Blé de Bordeaux :</i>						
100 grammes substance fraîche	0,285	1,176	0,284	1,476	0,041	3,262
100 grammes substance sèche	2,825	11,630	2,820	14,601	0,411	32,287

Expérience du 13 août.

Les germinations ont été récoltées huit jours après ensemencement.

Voici les résultats obtenus :

	GLUCOSIDES flavoniques.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin argenté :</i>						
100 grammes substance fraîche.....	0,266	0,920	0,322	2,183	0,255	3,946
100 grammes substance sèche	1,829	5,038	1,763	20,043	1,752	30,425
<i>Blé de Bordeaux :</i>						
100 grammes substance fraîche.....	0,153	1,096	0,158	1,290	0,035	2,732
100 grammes substance sèche	1,732	12,480	1,804	14,715	0,407	31,138

Examinons maintenant les nombres fournis par ces tableaux. Ils nous serviront comme point de départ dans la relation que nous cherchons à établir entre les glucosides flavoniques et les autres composés hydrocarbonés chez les plantules étiolées d'une part, puis entre les glucosides flavoniques, les glucosides anthocyaniques et les autres composés hydrocarbonés chez les plantules rouges, ainsi que chez les plantules rouges replacées à l'obscurité pendant un certain temps, d'autre part.

Ces expériences et une série d'autres, inutiles à mentionner en détail, permettent de faire des constatations précises.

1. *Glucosides flavoniques.* — Chez le Sarrasin ainsi que chez le Blé, ces corps existent en quantité assez importante dans les plantules étiolées. Cette quantité par 100 grammes de substance sèche varie de 1^{gr},829 à 2^{gr},015 chez le Sarrasin et de 1^{gr},732 à 2^{gr},825 chez le Blé. Cette quantité varie dans le même sens que la quantité totale des composés hydrocarbonés.

2. *Sucres réducteurs.* — Ces corps sont, par rapport aux premiers, en quantité beaucoup plus grande. Chez le Sarrasin, cette quantité est de 4^{gr},966 à 5^{gr},038; chez le Blé, de 11^{gr},630 à 12^{gr},480, cette dernière espèce étant plus riche que la première en sucres réducteurs. On ne constate plus ici le rapport entre ces substances et les sucres totaux, que nous avons

trouvé pour les glucosides. La quantité de ces sucres est très variable dans les plantules et dépend de circonstances nombreuses.

3. *Sucres non réducteurs.* — Ces sucres sont représentés, en général, par une moindre quantité que les glucosides. Cette quantité est de 1^{gr},031 à 1^{gr},763 chez le Sarrasin, par conséquent inférieure à celle des glucosides, et de 2^{gr},820 à 1^{gr},804 chez le Blé de Bordeaux, quantité à peu près égale à celle des glucosides.

4. *Amidons.* — Cette catégorie de corps se trouve en abondance dans les plantules étiolées. Chez le Sarrasin, la quantité des amidons est de 20^{gr},043 à 23^{gr},141 ; on constate ici, par rapport aux sucres totaux, le même rapport que pour les glucosides. La quantité d'amidon varie avec la quantité totale de composés hydrocarbonés. Chez le Blé, cette quantité est à peu près la même dans les deux expériences : de 14^{gr},601 à 14^{gr},715. Il n'y a pas chez le Blé de rapport entre les sucres totaux et les amidons. La grande quantité d'amidon dans les plantules étiolées de Sarrasin est due au fait que toutes les substances de réserve renfermées dans les graines ont émigré dans les axes hypocotylés des plantules. Remarquons, en effet, qu'au début de nos expériences sur le Sarrasin les graines ont complètement disparu ; il n'y a que les axes hypocotylés et les deux cotylédons qui sont récoltés ensemble, tandis que, chez le Blé, la quantité d'amidon est moindre parce que nous récoltons seulement les tiges, et que les graines, qui contiennent encore en grande partie les substances de réserve, restent dans la terre.

D'autre part, en considérant le rapport entre les sucres et les amidons chez ces deux plantes, nous voyons que, chez le Sarrasin, la quantité de sucre est très petite en comparaison de celle de l'amidon, tandis que, chez le Blé, ces quantités diffèrent beaucoup moins entre elles. On peut se rendre compte de ce fait en supposant que moins d'amidon est hydrolysé en sucres réducteurs dans le premier cas que dans le second, puisque ces sucres ne peuvent avoir d'autre origine que la transformation des substances de réserve et surtout de celle des amidons.

5. *Cellulose*. — Cette catégorie de substances existe généralement en moindre quantité que les glucosides chez les plantules étiolées. Chez le Sarrasin, on trouve de 1^{gr},752 à 2^{gr},400 de cellulose, tandis que, chez le Blé, cette quantité est bien inférieure à celle de glucosides ; elle est seulement de 0^{gr},407 à 0^{gr},411. Les plantules étiolées sont dépourvues d'un tissu cellulosique bien développé, d'où la petite quantité de cellulose trouvée aux dosages.

6. *Sucres totaux*. — La teneur de sucres totaux chez les plantules étiolées de Sarrasin est de 30^{gr},425 à 33^{gr},553 ; chez le Blé, elle est de 31^{gr},138 à 32^{gr},287. La différence qui existe entre les sucres totaux d'une expérience à l'autre peut être attribuée au stade de développement des plantules et aux variations des conditions extérieures qui ont pu avoir lieu pendant leur développement.

Ce que nous voulons mettre en évidence dans ces expériences, c'est la teneur des plantules en glucosides flavoniques. Ces composés, en quantité appréciable dans les organes étiolés, représentent chez le Sarrasin, en moyenne 2 p. 100 de la quantité totale de la substance sèche et de 5,7 à 6 p. 100 relativement à la totalité de sucre.

Chez le Blé étiolé, ces corps représentent en moyenne 2,25 p. 100 de la totalité de substance sèche et 5,5 p. 100 des sucres totaux.

Examinons maintenant les plantules qui se sont pigmentées de rouge par leur exposition à la lumière.

2. — Plantules colorées en rouge par la lumière.

Au moment où nous avons commencé les analyses sur les plantules étiolées, nous avons mis à la lumière une série de ces plantules cultivées en même temps que les premières. Comme nous l'avons dit plus haut, le pigment rouge se forme déjà en abondance au bout de quarante-huit heures seulement, si les conditions extérieures sont favorables. Un fait bien connu pour les plantules étiolées, quand on les place à la lumière, c'est qu'elles cessent de s'allonger ; la croissance y est presque momentanément arrêtée ; mais les plan-

tules deviennent plus résistantes par suite de la différenciation du tissu de soutien. L'influence retardatrice de la lumière sur la croissance des plantes est un phénomène décrit depuis longtemps, ainsi que son action favorable sur le développement des éléments fibreux.

Un autre phénomène se produit : le pigment rouge se forme très vite et en abondance sous l'influence de la lumière. L'anthocyane se développe abondamment chez les plantules de Sarrasin, dans l'épiderme et même dans les tissus plus profonds, tandis que, chez le Blé, elle ne se développe que dans l'épiderme des tiges. Les cotylédons de Sarrasin verdissent ; l'anthocyane ne s'y forme que sur la face inférieure et en très faible quantité ; ces substances n'existent pas non plus dans les feuilles de Blé, qui deviennent rapidement d'un vert foncé.

Après deux jours d'insolation, les plantules présentent les teintes suivantes : le Sarrasin a les axes hypocotylés fortement colorés en rouge vif et ses cotylédons totalement colorés en vert franc à la face supérieure, en vert tacheté de rouge à la face inférieure ; le Blé a l'épiderme de sa tige coloré en rouge violacé et ses feuilles d'un vert pur.

C'est sur les plantules que nous venons de décrire que nous avons fait porter nos analyses.

Les glucosides anthocyaniques, séparés des autres composés hydrocarbonés, sous forme de sel de plomb, présentent pour les deux plantules une coloration verte très intense.

Le précipité glucosidique plombique de Sarrasin, traité par l'acide sulfurique à 7 p. 100, prend une coloration rouge franc ; celui de Blé, traité de la même manière, acquiert une coloration d'un rouge plus foncé, un peu violacé. Après l'hydrolyse à l'autoclave de ces glucosides, la coloration rouge s'intensifie chez le Sarrasin ; au contraire, elle est remplacée par une couleur jaune chez le Blé. Les anthocyanes du Sarrasin et du Blé ont donc des caractères chimiques notablement différents.

Nous donnons dans deux tableaux les résultats des analyses de deux séries d'expériences faites sur les *plantules colorées* citées ci-dessus :

Expérience du 15 juillet.

	GLUCOSIDES antho- cyaniques.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin argenté rouge :</i>						
100 grammes sub- stance fraîche.....	0,265	0,362	0,043	1,994	0,352	3,016
100 grammes sub- stance sèche.....	2,225	3,033	0,361	16,694	2,949	25,262
<i>Blé de Bordeaux rouge :</i>						
100 grammes sub- stance fraîche.....	0,316	0,224	0,026	2,137	0,125	2,828
100 grammes sub- stance sèche.....	3,384	2,412	0,281	22,950	1,347	30,374

Expérience du 13 août.

	GLUCOSIDES antho- cyaniques.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin argenté rouge :</i>						
100 grammes sub- stance fraîche.....	0,144	0,321	0,072	0,490	0,130	1,157
100 grammes sub- stance sèche.....	2,026	4,632	1,038	7,068	1,940	16,704
<i>Blé de Bordeaux rouge :</i>						
100 grammes sub- stance fraîche.....	0,194	0,540	0,108	1,626	0,146	2,614
100 grammes sub- stance sèche.....	1,943	5,397	1,079	16,234	1,468	26,121

Il faut d'abord faire une remarque : le mot glucosides anthocyaniques mis dans l'en-tête des tableaux ci-dessus

comprend à la fois les glucosides anthocyaniques et les glucosides flavoniques.

Dans les plantes étiolées étudiées précédemment, il n'existait que les glucosides flavoniques. Au contraire, dans les plantes rouges, les deux types de glucosides existent à la fois, mais il est impossible de les séparer par les procédés chimiques actuellement connus.

Donc, dans tous les résultats que nous publierons relativement aux plantes rouges qui renferment ces corps, nous comprendrons, à la fois, les deux catégories de corps : *glucosides anthocyaniques* et *glucosides flavoniques*.

Pour permettre au lecteur de se rendre mieux compte des quantités respectives des diverses substances dosées qui existent dans les plantes étiolées ou dans les plantes rouges, nous rapprochons dans un même tableau les données relatives aux deux types de plantes. et pour le Sarrasin et pour le Blé. Les nombres de ce tableau sont ceux qui correspondent à 100 grammes de substance sèche.

	SARRASIN ARGENTÉ.		BLÉ DE BORDEAUX.	
	Étiolé.	Rouge.	Étiolé.	Rouge.
Glucosides	1,829	2,026	1,732	1,943
Sucres réducteurs	5,038	4,632	12,480	5,397
Sucres non réducteurs....	1,763	1,038	1,804	1,079
Amidons	20,043	7,068	14,715	16,234
Celluloses.....	1,752	1,940	0,407	1,468
Sucres totaux.....	30,425	16,704	31,138	26,121

Un résultat saute immédiatement aux yeux par l'examen de ce tableau.

Le rapport entre les glucosides et les autres composés hydrocarbonés diffère chez les plantules étiolées et chez les plantules colorées. Il existe aussi une différence en ce qui concerne les autres substances hydrocarbonées entre elles.

1. *Glucosides flavoniques et anthocyaniques.* — La quantité de ces corps n'est pas très différente chez les plantules rouges et chez les plantules étiolées. Cependant il en existe une bien

nette. Dans les deux expériences comparables que nous citons, cette quantité passe chez le Sarrasin de 1^{gr},829 à 2^{gr},026, donc une augmentation de 0^{gr},195. Chez le Blé, les deux nombres correspondants sont 1^{gr},732 et 1^{gr},943, donc une augmentation de 0^{gr},211. Ajoutons que, dans d'autres expériences, cette augmentation s'est montrée plus élevée encore.

Pour expliquer ce phénomène, divers auteurs ont émis l'idée que les glucosides anthocyaniques se forment aux dépens de sucres accumulés dans les tissus. Voyons donc quelles sont les quantités de sucres contenus dans nos types de plantes.

2. *Sucres réducteurs et non réducteurs.* — La variation de ces corps, si l'on compare les plantes rouges aux plantes étiolées, se fait en sens inverse de celle des glucosides. Pendant que la proportion des glucosides augmente dans les plantules rouges, celle des sucres y diminue. La quantité des sucres réducteurs chez les plantules étiolées de Sarrasin tombe de 5^{gr},038 à 4^{gr},632 dans les plantules colorées. Chez le Blé, cette différence est encore plus marquée, de 12^{gr},480 d'une part et 5^{gr},397 seulement d'autre part. Dans d'autres expériences déjà citées ou relatées plus loin, cette variation est encore plus accentuée. Les sucres non réducteurs évoluent de la même façon que les premiers. Chez le Sarrasin la quantité de ces corps varie de 1^{gr},763 à 1^{gr},038 ; chez le Blé, de 1^{gr},804 à 1^{gr},079.

On constate donc une diminution appréciable de ces deux sortes de sucres chez les plantules dans lesquelles se forme l'anthocyane.

R. Combes a soutenu que c'est surtout aux dépens de ces corps que se forment les anthocyanes. Overton (41), Molliard (36), Palladine (42) considèrent, d'autre part, que les sucres favorisent l'apparition des anthocyanes.

Les trois derniers auteurs ont cultivé des plantes ou des organes de plantes dans des solutions riches en sucres et ont constaté, dans la majorité des cas, que le pigment rouge se développe très facilement et en grande quantité. Ces auteurs, se fondant sur les résultats de leurs expériences, ont conclu qu'il y a un rapport très étroit entre la quantité de

sucres et la formation du pigment anthocyannique dans les tissus des plantes.

En outre, Combes (9), dans le but d'établir la relation qui existe entre les anthocyanes et les composés hydrocarbonés, a dosé la quantité de sucres et de glucosides dans des organes verts et dans des organes rouges d'*Ampelopsis hederacea*, de *Rosa canina*, *Sorbus latifolia*, *Mahonia Aquifolium* et *Spiraea paniculata*; dans toutes ses analyses, l'auteur a trouvé que les organes rouges renferment une plus grande quantité de sucres et de glucosides que les mêmes organes lorsqu'ils sont verts. Il conclut de ses recherches que la production du pigment rouge, provoquée par des causes diverses, est accompagnée, dans tous les cas, d'une accumulation, dans les organes pigmentés, de composés hydrocarbonés solubles. Enfin l'auteur va plus loin et précise de la manière suivante le rôle de ces corps dans la formation de l'anthocyane.

« Puisque la formation de l'anthocyane, composé de nature glucosidique, est corrélatrice d'une augmentation des glucosides totaux, il paraît logique de supposer que cette substance ne se forme pas aux dépens de glucosides préexistants, mais qu'elle se constitue plutôt de toutes pièces; c'est à sa formation que doit être rapportée, au moins en partie, l'augmentation qui se produit dans l'ensemble des glucosides. »

Rosé (43), dans un travail plus récent, s'est occupé de l'évolution des sucres et des glucosides au cours de la formation des anthocyanes dans les fleurs de *Cobaea scandens*.

Cet auteur, en dosant les sucres réducteurs et non réducteurs et les glucosides, a trouvé une grande quantité de sucres dans les fleurs en voie de pigmentation (fleur violet pâle); cette quantité est de 28^{gr},880 pour 100 grammes de substance sèche; dans les fleurs au même stade, les glucosides font totalement défaut. Dans les fleurs fortement colorées, les sucres diminuent jusqu'à 14^{gr},104, et les glucosides apparaissent de toutes pièces, montant jusqu'à 2^{gr},613 pour 100 grammes de substance sèche. Rosé conclut de ses recherches de la même manière que R. Combes:

« Puisque la formation de l'anthocyane, composé de nature glucosidique, est corrélatrice d'une apparition de glucosides

dans la fleur, on doit admettre que ce pigment ne se forme pas aux dépens de glucosides préexistants, mais qu'il se constitue de toutes pièces, et que c'est à sa formation qu'est due la quantité totale des glucosides qui existent dans la fleur pigmentée. »

Nos expériences sur le Sarrasin et le Blé ont confirmé, en ce qui concerne les quantités de sucres, les résultats trouvés par Rosé avant et après la pigmentation des fleurs; au contraire, il y a discordance entre ses résultats et les nôtres, relatifs aux glucosides. Nous avons toujours mis en évidence des quantités importantes de glucosides dans les organes étiolés, et ce désaccord nous a incité à reprendre les dosages de ces corps dans les fleurs non encore colorées de *Cobæa scandens*.

Dans une note (19) antérieure, nous avons démontré, en donnant tous les détails de notre procédé d'analyse, que les fleurs incolores de *Cobæa scandens* contiennent des glucosides en quantités importantes, différant à peine de celles qui existent dans les fleurs colorées. Les résultats négatifs de Rosé tiennent sans doute à la méthode d'extraction qu'il a employée.

D'autre part, Pierre Dangeard (10), en examinant au microscope des jeunes feuilles de Rosier, arrive à la constatation que l'anthocyane ne se forme pas de toutes pièces. Il conclut ainsi: « Les résultats de nos recherches ne nous permettent pas d'admettre un mode de formation de l'anthocyane qui aurait lieu par deux procédés, l'un direct, l'autre indirect, puisque nous avons montré que l'anthocyane ne se forme jamais de toutes pièces. Cette substance apparaît dans le vacuome, à la suite des composés phénoliques, et son élaboration est probablement liée d'une façon très intime aux transformations de ces derniers corps, qui sont si fréquents dans les vacuoles des végétaux. »

Si nous revenons à l'étude du rapport des sucres et des glucosides pendant la formation de l'anthocyane, nous constatons, d'accord avec Rosé, que l'apparition de ce pigment est toujours précédée, dans nos expériences, d'une accumulation de sucres réducteurs et non réducteurs. Puis, ultérieure-

ment, dans les tissus, la quantité des sucres solubles diminue à mesure que la pigmentation s'accroît.

Michel-Durand (29), dans un travail sur la variation des substances hydrocarbonées dans les feuilles, a constaté le même fait. Chez les feuilles d'*Ampelopsis*, cet auteur a trouvé que le maximum de teneur en sucres réducteurs et non réducteurs correspond au début de la coloration rouge de ces organes; à l'époque où le pigment rouge commence à apparaître, ces sucres diminuent rapidement.

Kurt Noack (40) a publié tout récemment un mémoire dans lequel il examine les diverses opinions émises sur le rôle que peuvent jouer les sucres dans la formation de l'anthocyane. Il conteste le rôle que les auteurs antérieurs ont plus ou moins attribué aux sucres dans la formation de l'anthocyane.

Enfin, Victor Grafe (14) émet l'opinion que les sucres seuls ne suffisent pas à la formation de l'anthocyane, mais qu'il faut aussi d'autres matériaux dans la cellule pour que le pigment puisse se constituer. Il affirme que, dans les points végétatifs des plantes, les phénomènes chimiques donnent naissance à des acides, tandis que le résultat des transformations des hydrates de carbone déposés comme réserves est toujours la formation du sucre. Le produit de condensation de ces deux types de corps constitue un *chromogène*, qui, par une légère modification moléculaire, produit un *groupe chromophore*, une *anthocyane*. Il ajoute ensuite : « Cette condensation des sucres et des acides représente certainement une matière de réserve transitoire, analogue à l'amidon de transition dont les composants trouvent d'autres emplois dans la constitution des tissus. »

Telles sont les opinions courantes admises actuellement sur le rôle que peuvent jouer les sucres dans la formation de l'anthocyane; à notre tour, nous constatons dans nos expériences que la diminution progressive des sucres, concomitante à la formation croissante des anthocyanes, indique un rapport étroit entre ces deux catégories de substances.

3. *Amidons*. — Chez le Sarrasin, l'amidon suit la même évolution que les sucres, c'est-à-dire la quantité de ce corps diminue à mesure que les plantules se colorent et que se forme

l'anthocyane. De 20^{gr},043 dans les plantules étiolées, l'amidon tombe à 7^{gr},068 dans les plantules rouges, perte 12^{gr},975.

Pour le Blé les choses se passent autrement : l'amidon est en plus grande quantité chez les plantules rouges que chez les étiolées. De 14^{gr},715 la quantité de ce corps dans les plantules étiolées monte à 16^{gr},234 dans les rouges, par conséquent il y a une augmentation de 1^{gr},519 qui s'est produite dans deux jours d'exposition à la lumière. Une augmentation de ce genre s'est produite dans toutes nos expériences sur le Blé.

Comment peut-on s'expliquer ce résultat? L'augmentation de l'amidon chez les plantules rouges peut provenir de deux sources : 1^o le contenu du grain n'est pas épuisé ; nous l'avons constaté, même dans les plantules rouges qui avaient été replacées pendant plusieurs jours à l'obscurité. Ce contenu est constitué en grande partie par des sucres résultant de la transformation de l'amidon lors de la germination ; ces sucres passent dans la tige et peuvent redonner de l'amidon ; 2^o les plantules, exposées à la lumière, développent leurs feuilles très rapidement, comme nous l'avons déjà vu ; ces feuilles ont une assimilation énergique, et les produits fabriqués dépassant les besoins de la plante, il s'y forme des réserves transitoires sous forme d'amidon, qui vient s'ajouter au précédent. En somme, il y a surabondance de production de substances hydrocarbonées qui se déposent momentanément sous forme d'amidon, d'où augmentation de cette substance dans les plantules rouges.

Les recherches quantitatives faites sur l'évolution de l'amidon pendant la germination des graines sont encore peu nombreuses. Les dosages exécutés jusqu'à présent montrent cependant que l'amidon diminue progressivement à mesure que la germination avance. L'exemple du Sarrasin rentre parfaitement dans le cadre de cette évolution.

Cette disparition de l'amidon peut s'expliquer de la façon suivante. Les grains d'amidon ont disparu pendant la germination. Toutes les substances de réserve qu'ils contenaient ont émigré dans les deux cotylédons et dans l'axe hypocotylé. Ces cotylédons, quoique verts, sont très petits, et leur

pouvoir d'assimilation très faible. La plante est donc contrainte, pour son ravitaillement, d'utiliser ses réserves, c'est-à-dire de consommer son amidon.

Le Blé se comporte autrement, sans doute pour les raisons que nous avons données plus haut.

4. *Celluloses*. — Cette catégorie de substances évolue de la même manière, et très régulièrement, chez les deux espèces étudiées.

Dans l'une ainsi que dans l'autre, la quantité de celluloses augmente chez les plantules rouges.

Pour le Sarrasin, la quantité de ces substances, dans les plantules étiolées, est de 1^{gr},752 ; elle s'élève à 1^{gr},940 dans les plantules rouges, donc une augmentation de 0^{gr},184.

Pour le Blé, cette quantité monte de 0^{gr},407 à 1^{gr},468, augmentant ainsi de 1^{gr},061. Dans ce dernier cas, comme on le voit, l'augmentation est considérable. On sait que les celluloses, au point de vue chimique, sont des polysaccharides dont la molécule est très condensée et constituent, au point de vue anatomique, la partie particulièrement résistante de la membrane cellulaire. Il est très facile d'expliquer la formation abondante de ces substances chez les plantules rouges. Les celluloses peuvent provenir des sucres dont la molécule est moins condensée et dont on constate la diminution dans les organes devenus rouges.

Notons ici que nous ne comptons pas comme celluloses les substances auxquelles on donne le nom d'*hémicelluloses*, parce que ces dernières sont facilement hydrolysables et ont été, par conséquent, dosées avec les amidons. C'est peut-être même là une cause qui s'ajoute à celles que nous avons déjà indiquées, pour expliquer l'augmentation de l'amidon dans les plantules rouges de Blé.

Les celluloses se sont donc formées, en plus grande quantité, dans les plantules exposées à la lumière ; elles ont contribué à développer davantage les tissus de soutien, fait qui se manifeste extérieurement par une vigueur plus grande des tiges.

Mentionnons, en outre, l'analogie qui existe entre l'augmentation des glucosides et celle des celluloses. Ces deux caté-

gories de substances ont une évolution parallèle dans le phénomène de rougissement des plantules.

En résumé, la comparaison entre les plantules étiolées et les plantules rouges conduit aux résultats suivants :

La teneur en glucosides anthocyaniques et en celluloses augmente quand les plantules deviennent rouges ; celle des sucres réducteurs, des sucres non réducteurs et des amidons, diminue au contraire considérablement pendant la formation du pigment rouge.

La proportion des sucres totaux diminue aussi chez les plantules pendant le phénomène du rougissement ; toutefois cette diminution de la quantité des sucres totaux n'est pas due seulement à la formation du pigment anthocyanique, mais aussi à une série d'autres processus vitaux qui se produisent quand les plantules sont exposées à la lumière.

IV

DOSAGE DES GLUCOSIDES ET DES AUTRES COMPOSÉS HYDROCARBONÉS DANS LES PLANTULES ROUGES REPLACÉES A L'OBSCURITÉ

Au moment où nous avons commencé les analyses sur les plantules colorées dont nous avons parlé plus haut, nous avons remis à l'obscurité, dans une chambre noire, une série de plantules rouges de Sarrasin et de Blé de Bordeaux, qui provenaient de la même culture que celles sur laquelle nous avons fait porter nos analyses. Dans cette obscurité complète, les plantules étant régulièrement arrosées, l'assimilation chlorophyllienne faisait complètement défaut et les plantes étaient obligées de consommer la réserve des substances accumulées dans leurs tissus.

Nous avons énoncé d'une manière générale les modifications extérieures que les plantules subissent pendant leur séjour à l'obscurité. Nous allons maintenant donner les résultats de l'étude détaillée des plantules, faite chaque jour.

Examinons d'abord le cas du Sarrasin. Cette plante présente les phénomènes suivants quand elle est remise à l'obscurité : dans les premiers jours, les axes hypocotylés commencent à s'allonger, et la couleur rouge vif qui y était localisée devient d'un rouge noirâtre. Après six à sept jours, les plantules ont allongé beaucoup leurs axes, et leur coloration est devenue rouge pâle. Au bout de quinze jours d'obscurité, les plantules ont continué à s'accroître, mais leur coloration a disparu à peu près totalement ; la base seule de l'axe hypocotylé a conservé encore une faible coloration rouge noirâtre.

L'obscurité étant prolongée vingt jours, les plantules ont alors commencé à souffrir, et elles sont mortes deux jours après.

On n'a jamais constaté une migration du pigment rouge dans les parties jeunes supérieures qui se formaient et res-

taient complètement étiolées. On a observé, au contraire, que la disparition du pigment se propageait de haut en bas ; c'est pour cela qu'au bout de quinze jours d'obscurité la base seule de la tige gardait une faible coloration.

Dans ces conditions, les plantes n'ont jamais produit de nouvelles feuilles, et elles conservaient les deux cotylédons verts.

Pour le Blé, les choses se passent un peu différemment. Les tiges s'allongent relativement peu, et il se forme de nouvelles feuilles. Le pigment disparaît beaucoup plus vite que chez le Sarrasin. Dans les premiers jours d'obscurité, la coloration rouge violet foncé des tigelles devient d'un rouge pur ; après huit à dix jours, le pigment ne persiste plus que comme une faible coloration rouge ; enfin, après quinze jours, la coloration disparaît à peu près complètement ; seule persiste encore une faible teinte rougeâtre qui disparaît totalement au bout de vingt jours d'obscurité. Cette transformation du pigment se passe seulement dans l'épiderme de la tige ; les feuilles, qui, au moment de la remise des plantules rouges à l'obscurité, étaient vertes, perdent leur chlorophylle, et les feuilles nouvelles poussent étiolées pendant le séjour à l'obscurité. Après vingt à vingt-cinq jours d'obscurité, les plantules de Blé présentent des tiges couvertes d'un épiderme brunâtre et de longues feuilles étiolées.

C'est sur ces plantules, telles que nous venons de les décrire, que nous avons fait porter des dosages successifs à quelques jours d'intervalle, comme nous le verrons pour chaque série d'expériences.

Première série.

Analyses faites après six jours à l'obscurité.

Les glucosides anthocyaniques, retirés des plantules rouges qui ont séjourné six jours à l'obscurité, obtenus sous forme de sel plombique, présentent une coloration verte moins intense que celle des glucosides obtenus des plantes rouges qui nous ont servi comme témoins. Après l'hydrolyse à l'auto-

clave, ces glucosides donnent pour le Sarrasin une coloration rouge très foncée, et, pour le Blé, une coloration d'un jaune pur.

Voici les résultats détaillés de cette série d'expériences. Les nombres sont rapportés à 100 grammes de substance fraîche et à 100 grammes de substance sèche :

	SARRASIN.				BLÉ.			
	Rouge à la lumière.		Rouge 6 jours à l'obscurité.		Rouge à la lumière.		Rouge 6 jours à l'obscurité.	
	100 gr. substance fraîche.	100 gr. substance sèche.	100 gr. substance fraîche.	100 gr. substance sèche.	100 gr. substance fraîche.	100 gr. substance sèche.	100 gr. substance fraîche.	100 gr. substance sèche.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides anthocyaniques...	0,292	2,471	0,097	1,750	0,194	1,943	0,048	0,423
Sucres réducteurs	0,684	5,608	0,240	4,326	0,540	5,397	0,862	7,558
Sucres non réducteurs	0,086	0,734	0,015	0,279	0,108	1,079	0,120	1,052
Amidols	2,256	19,086	0,186	8,700	1,626	16,234	1,802	15,795
Celluloses	0,103	0,876	0,068	1,228	0,146	1,168	0,249	2,186
Sucres totaux	3,421	28,775	0,907	16,283	2,614	26,121	3,081	27,014

Analyses faites après dix jours à l'obscurité pour le Blé et quinze jours pour le Sarrasin.

Les glucosides anthocyaniques retirés des plantules à peu près complètement décolorées ont, sous forme de sel plombique, une coloration presque jaune. Après l'hydrolyse, ces glucosides présentent, pour le Sarrasin, une coloration noirâtre et, pour le Blé, une coloration brunâtre.

Les résultats suivants nous montrent les modifications subies dans la quantité des glucosides et des autres substances hydrocarbonées pendant l'obscurité :

	GLUCOSIDES antho- cyaniques.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin rouge à l'obscurité 15 jours :</i>						
100 grammes substance fraîche	0,022	0,213	0,000	0,524	0,103	0,862
100 grammes substance sèche.....	0,363	3,414	0,000	8,383	1,654	13,814
<i>Blé rouge à l'obscurité 10 jours :</i>						
100 grammes substance fraîche	0,032	0,880	0,075	1,406	0,446	2,839
100 grammes substance sèche.....	0,323	8,888	0,762	14,200	4,503	28,676

Les nombres de ce tableau nous permettent de faire les constatations suivantes :

1^o *La quantité des glucosides anthocyaniques par rapport aux autres composés hydrocarbonés est inférieure à celle des sucres réducteurs, des amidons et des celluloses ;*

2^o *La quantité de ces corps diminue sensiblement à l'obscurité ; cette diminution s'accroît au fur et à mesure que se prolonge le séjour des plantules à l'abri de la lumière.*

Ces deux séries d'expériences ont été faites au mois de septembre ; la température de la chambre noire ne différait pas beaucoup de la température extérieure, et les variations, de part et d'autre, étaient très faibles.

Nous avons cependant voulu vérifier si ces faibles variations de température pouvaient avoir une certaine influence dans la disparition des glucosides anthocyaniques ; nous avons donc fait une série d'expériences à une température constante, au mois de février pour le Blé et au mois de mars pour le Sarrasin. Au début, les plantes furent placées à l'obscurité, dans une chambre noire maintenue à une température à peu près constante de 24° à 25° ; elles y restèrent une semaine. Dans ces conditions, les plantules se développèrent étiolées. Elles furent ensuite mises dehors à la lumière, susceptibles de recevoir du soleil ; la température extérieure

est évidemment très variable à cette époque ; au mois de février, elle a passé de 6° à 8° le matin à 19° vers deux heures de l'après-midi pour descendre à 9° à six heures du soir ; pendant la nuit, la température s'abaissait à 5° environ. Au mois de mars, la température était d'environ 14° le matin, 24° à 26° à deux heures, 18° à 20° à six heures du soir et, la nuit, descendait à 9° ou 10°. C'est seulement pendant leur exposition à la lumière que les plantules ont subi ces variations de température.

Pour obtenir un rougissement suffisamment intense, l'exposition à la lumière a été prolongée pendant quatre jours.

Dans ces conditions, les plantules de Blé ont développé leur pigmentation beaucoup plus abondamment qu'en automne ; au contraire, la croissance des feuilles était très ralentie. Chez le Sarrasin, le rougissement des plantules se faisait aussi bien en été qu'en automne.

Les plantes devenues rouges furent alors placées de nouveau dans la chambre noire, où pendant tout leur séjour la température resta constamment à 24°.

Nous donnons ici un tableau d'ensemble qui montre la disparition des glucosides anthocyaniques par rapport aux autres composés hydrocarbonés. Les plantes témoins sont celles qui ont rougi à la lumière et à la température basse du printemps ; nous les comparons aux plantules qui, après leur nouveau séjour à l'obscurité, ont perdu leur pigment rouge à la température relativement élevée et toujours constante de la chambre noire. Les dosages ont été faits progressivement après sept jours, dix jours, seize jours d'obscurité pour le Sarrasin, et huit jours, dix-neuf jours et vingt-cinq jours pour le Blé.

Pour restreindre le tableau, nous avons noté les poids qui se rapportent seulement à 100 grammes de substance sèche.

Expérience de mars.

Expérience de février.

	SARRASIN ARGENTÉ.				BLÉ DE BORDEAUX.			
	Rouge à la lumière.	Obscurité 7 jours.	Obscurité 10 jours.	Obscurité 16 jours.	Rouge à la lumière.	Obscurité 8 jours.	Obscurité 19 jours.	Obscurité 25 jours.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides anthocyaniques.	2,494	1,660	1,200	0,722	2,550	0,863	0,605	0,380
Sucres réducteurs.....	9,506	5,826	2,123	1,305	8,778	2,734	1,445	1,212
Sucres non réducteurs...	1,469	0,900	0,327	0 000	1,724	0,538	0,000	0,000
Amidons.....	11,105	9,102	8,860	7,201	19,888	13,831	13,155	11,481
Celluloses.....	1,577	2,463	2,603	1,868	2,302	3,398	2,831	4,537
Sucres totaux.....	26,151	19,951	15,203	11,096	35,242	21,364	18,036	14,610

Les nombres de ce tableau et ceux des tableaux précédents nous permettent de faire les constatations suivantes :

1. *Glucosides anthocyaniques.* — Ces corps, dans toutes les expériences, diminuent, indépendamment des variations de température, d'une manière sensible et progressive avec la prolongation du séjour des plantules à l'obscurité.

Chez le Sarrasin et dans la première série d'expériences, faite en automne, quand il y avait de faibles variations de température, la quantité des glucosides dans les plantules rouges tombait de 2^{gr},471 à 1^{gr},750 après six jours d'obscurité et enfin à 0^{gr},363 après quinze jours ; donc une perte de 2^{gr},108 pour ces corps.

Dans la seconde série, — expériences faites au printemps et à la température constante, — il y avait une diminution de ces corps de 2^{gr},494 à 1^{gr},660 après sept jours, à 1^{gr},200 après dix jours et enfin à 0^{gr},722 après seize jours d'obscurité ; donc une perte de 1^{gr},772.

Chez le Blé, nous constatons dans la première série que la quantité des glucosides est représentée par 1^{gr},943 dans les plantules rouges, et seulement par 0^{gr},423 après six jours d'obscurité et 0^{gr},323 après dix jours, donc une perte de 1^{gr},620. Dans la seconde série, les résultats sont les mêmes : de 2^{gr},550 la quantité des glucosides tombe à 0^{gr},863 après huit jours, à 0^{gr},605 après dix-neuf jours et enfin à 0^{gr},380 après vingt-cinq jours d'obscurité : perte totale de 2^{gr},170.

Nous pouvons remarquer, en outre, que le contenu en glucosides anthocyaniques diminue plus rapidement pendant les six à sept premiers jours d'obscurité. Ensuite la disparition se fait très lentement jusqu'à la mort des plantules. Cette diminution brusque des glucosides correspond d'ailleurs avec les changements de couleur des plantules qui se produisent très manifestement dans les premiers jours d'obscurité.

Ajoutons que, si la diminution est considérable, il n'y a jamais disparition complète et totale de ces corps, même quand les plantules commencent à dépérir.

2. *Sucres réducteurs.* — Cette catégorie de corps évolue d'une manière différente suivant les conditions d'expérience et suivant l'espèce.

Chez le Sarrasin, dans la première aussi bien que dans la seconde série, les sucres réducteurs diminuent de la même façon que les glucosides par le séjour à l'obscurité. Dans la première série, ils tombent de 5^{gr},826 chez les plantules rouges à 4^{gr},326 après six jours et enfin à 3^{gr},414 après quinze jours d'obscurité : il y a donc une perte de 2^{gr},494.

Dans la seconde série, ils diminuent de 9^{gr},506 à 5^{gr},826 après sept jours d'obscurité, à 2^{gr},123 après dix jours et à 1^{gr},305 après seize jours d'obscurité : perte 8^{gr},201. Cette perte est beaucoup plus grande que dans la première série; cela tient à ce que la température de 24° plus élevée et toujours constante a favorisé davantage les processus chimiques de combustion qui se passent dans la plante.

Le Blé présente des variations dans l'évolution des sucres réducteurs. Dans la première série, ces corps varient d'une manière inverse que chez le Sarrasin. Au lieu de constater une diminution, nous remarquons une augmentation graduelle de ces corps avec la prolongation du séjour des plantules à l'obscurité. De 5^{gr},397 la quantité des sucres monte à 7^{gr},558 après six jours, puis à 8^{gr},888 après dix jours d'obscurité : donc une augmentation de 3^{gr},491.

En tenant compte des conditions des expériences, on pouvait s'attendre à un résultat contraire. Alors quelle est l'explication de cette contradiction apparente?

Rappelons que cette série d'expériences a été faite au mois de septembre. La culture des plantules étiolées, puis leur rougissement à la lumière et enfin leur nouveau séjour à l'obscurité se sont passés à la température ambiante qui était peu élevée. Les phénomènes vitaux avaient alors une faible intensité.

D'autre part, les grains de Blé n'avaient pas perdu complètement leurs réserves même à la fin des expériences qui n'avaient eu qu'une durée relativement courte, dix jours. On constatait en effet que les grains, restés adhérents aux plantules, renfermaient encore une quantité notable de sucres dans leurs tissus.

Dans ces conditions de végétation, les plantules puisent leurs sucres dans les grains qui les leur fournissent en abondance. La production des sucres surpasse même les besoins de consommation de la plante. D'où l'augmentation signalée dans la proportion de ces corps. A la formation de cet excès de sucres réducteurs peuvent aussi contribuer les sucres non réducteurs et l'amidon, qui disparaissent en partie dans les tiges des plantules maintenues à l'obscurité, comme nous allons le voir plus bas.

Dans la seconde série d'expériences, nous constatons que les sucres évoluent de la même manière que chez le *Sarrasin*. Ils diminuent sensiblement et progressivement avec le séjour des plantules à l'obscurité. De 8^{gr},778, la quantité de ces substances tombe très rapidement à 2^{gr},734 après huit jours, puis à 1^{gr},445 après dix-neuf jours et enfin à 1^{gr},212 après vingt-cinq jours d'obscurité. On voit que la diminution totale est de 7^{gr},566.

Rappelons que, dans cette série, les germinations étiolées ont été faites dans une chambre noire à une température constante et élevée, de 24° environ, pendant une semaine. Pendant ce temps, les grains avaient presque totalement perdu leur contenu. Quand ces plantules, devenues rouges à la lumière, ont été replacées à l'obscurité dans la même chambre noire, nous avons constaté que les grains étaient ridés et complètement dépourvus de substances de réserve. Comme, à l'obscurité et toujours à une température constante

de 24°, les phénomènes vitaux étaient fortement accélérés, il y avait une active consommation, qui aboutissait à un appauvrissement en sucres réducteurs, fait qui correspond parfaitement avec la disparition graduelle de ces corps, mise en évidence par nos dosages.

3. *Sucres non réducteurs.* — Cette catégorie de sucres évolue d'une manière très régulière et très constante quand les plantules rouges sont replacées à l'obscurité. Ces sucres diminuent progressivement et finissent par disparaître complètement des tissus quand l'obscurité est prolongée assez longtemps.

Chez le Sarrasin, dans la première série d'expériences, ces sucres passent très rapidement de 0^{gr},734 à 0^{gr},240 après six jours, pour disparaître totalement après quinze jours d'obscurité. Dans la seconde série, même phénomène : de 1^{gr},469 la quantité tombe à 0^{gr},900 après sept jours, à 0^{gr},327 après dix jours pour disparaître définitivement au bout de seize jours d'obscurité.

Chez le Blé, ces sucres diminuent aussi. Dans la première série, leur quantité tombe de 1^{gr},079 à 1^{gr},052 après six jours, à 0^{gr},762 après dix jours d'obscurité. Dans la seconde série où les expériences se prolongent vingt-cinq jours, ces corps diminuent progressivement de 1^{gr},729 à 0^{gr},538 après huit jours d'obscurité et ont complètement disparu au bout de dix-neuf jours.

4. *Amidons.* — Les amidons évoluent de la même manière et dans le même sens pour les deux espèces de plantes. Ces corps diminuent progressivement dans les plantules remises à l'obscurité.

Chez le Sarrasin, et pour la première série d'expériences, les amidons tombent de 19^{gr},086 à 8^{gr},700 après six jours d'obscurité, diminuant ainsi de plus de moitié. La variation devient ensuite très faible, car, après quinze jours, la quantité est encore de 8^{gr},383. Il y a donc en totalité, dans cet intervalle, une diminution de 10^{gr},703.

Dans la seconde série, la variation du contenu en amidon se produit de la même façon. De 11^{gr},405, la quantité devient 9^{gr},402 après sept jours d'obscurité, 8^{gr},860 après dix jours

et 7^{gr},201 après seize jours d'obscurité : perte totale, 3^{gr},904. Dans cette série, la diminution est moindre que dans la première.

Chez le Blé, dans la première série, on constate que la quantité des amidons tombe de 16^{gr},234 à 15^{gr},795 après six jours d'obscurité, à 14^{gr},200 après dix jours, c'est-à-dire que la perte est de 2^{gr},134.

Dans la seconde série, la diminution est beaucoup plus importante que dans la première. De 19^{gr},888, la quantité d'amidon s'abaisse à 13^{gr},831 après huit jours, à 13^{gr},155 après dix-neuf jours, pour descendre à 11^{gr},481 après vingt-cinq jours d'obscurité. Il y a donc une perte de 8^{gr},407 dans cet intervalle.

En résumé, on constate que les amidons, indépendamment de l'espèce et des circonstances extérieures signalées, suivent la même voie d'évolution que les glucosides et les sucres non réducteurs, c'est-à-dire qu'ils diminuent toujours dans les tissus des plantes obligées de vivre dans des conditions anormales, comme c'est le cas de l'obscurité.

Les amidons, de même que les glucosides, ne disparaissent pas totalement des tissus, même quand les plantes meurent. Les dosages ont mis en évidence, même dans ce cas, des quantités encore assez importantes dans les organes morts.

5. *Celluloses*. — Cette catégorie de substances évolue tout à fait différemment des autres composés hydrocarbonés. Dans les premiers jours d'obscurité, les celluloses continuent à augmenter de poids dans les tissus, puis diminuent quand l'obscurité se prolonge plus longtemps. Les nombres des tableaux nous montrent ces variations.

Chez le Sarrasin, et dans la première série d'expériences, la quantité des celluloses est relativement petite dans les plantules rouges. Cette quantité de 0^{gr},876 monte à 1^{gr},228 après six jours, pour arriver à 1^{gr},654 après quinze jours d'obscurité : donc une augmentation de 0^{gr},778.

Dans la seconde série, quand les conditions de température sont plus élevées et l'expérience prolongée plus longtemps, nous constatons que les celluloses augmentent aussi très rapidement dans les premiers jours, mais diminuent dans les

derniers. De 1^{gr},577 elles montent à 2^{gr},463 après sept jours d'obscurité pour arriver à 2^{gr},693 après dix jours, donc une augmentation de 1^{gr},116 après seize jours d'obscurité; elles tombent de 2^{gr},693 à 1^{gr},868, donc une perte de 0^{gr},825 pendant ces dix derniers jours.

Chez le Blé, nous constatons les mêmes résultats que chez le Sarrasin.

Dans la première série, les celluloses augmentent de 1^{gr},468 à 2^{gr},186 après six jours, à 4^{gr},503 après dix jours d'obscurité, donc une augmentation très appréciable de 3^{gr},035.

Dans la seconde série, ces substances montent de 2^{gr},302 à 3^{gr},398 après huit jours d'obscurité; augmentation de 1^{gr},096; après dix-neuf jours, les celluloses tombent à 2^{gr},831 pour s'abaisser à 1^{gr},537 après vingt-cinq jours d'obscurité. Il y a donc une perte totale de 1^{gr},861 dans ces dix-sept derniers jours d'obscurité.

Les résultats de nos expériences mettent toujours en évidence une augmentation de celluloses dans les premiers jours d'obscurité. Cette augmentation correspond parfaitement aux phénomènes de croissance que subissent les plantules pendant cette période. De nouveaux tissus se forment qui allongent les plantules et qui augmentent la quantité totale des celluloses. Quand l'obscurité se prolonge plus longtemps, les plantules ne s'allongent plus, faute de substances nécessaires à la croissance; à l'obscurité prolongée, les dosages nous montrent, en effet, que les substances qui pourraient contribuer au développement des plantules commencent à s'épuiser et quelques-unes même à disparaître. Les plantules, dans ces conditions, attaquent leurs substances de réserve qui, seules, peuvent fournir leurs principes nutritifs immédiats. Les celluloses entrent dans cette catégorie de substances. Il est naturel alors de les voir diminuer.

6. *Sucres totaux.* — Quand les plantes rouges sont replacées à l'obscurité, la variation totale des sucres suit à peu près celle de chaque catégorie de sucres prise isolément.

Chez le Sarrasin, les sucres totaux diminuent progressivement et d'une manière constante avec le séjour des plantes

à l'obscurité, dans les deux séries d'expériences. Dans la première, la quantité de ces sucres chez les plantules rouges prises comme témoins est de 28^{gr},775 ; elle tombe à 16^{gr},283 après six jours et à 13^{gr},814 après quinze jours d'obscurité ; il y a donc une perte totale de 14^{gr},961 de sucres. Dans la seconde, les sucres totaux tombent de 26^{gr},151 à 19^{gr},951 après sept jours d'obscurité, à 15^{gr},203 après dix jours et enfin à 11^{gr},096 après seize jours d'obscurité ; il y a donc une perte de 14^{gr},948 de sucres, quantité sensiblement la même que dans la première série.

Chez le Blé, les sucres totaux augmentent légèrement dans la première série ; cette augmentation correspond à celle des sucres réducteurs, comme nous l'avons déjà expliqué. La quantité totale de ces sucres, dans les plantules témoins, monte de 26^{gr},121 à 27^{gr},014 après six jours, puis à 28^{gr},676 après dix jours d'obscurité ; donc une augmentation de 2^{gr},555 de sucre, augmentation qui est moindre que celle des sucres réducteurs.

Dans la seconde série, nous constatons, ainsi que pour le Sarrasin, une diminution progressive de la quantité totale des sucres. De 35^{gr},192, les sucres totaux tombent à 21^{gr},364 après huit jours d'obscurité, à 18^{gr},036 après dix-neuf jours, pour arriver à 14^{gr},610 après vingt-cinq jours d'obscurité. Il y a donc une perte totale de 20^{gr},582. Ici nous ne sommes plus dans les conditions exceptionnelles de la première série ; aussi les choses se passent-elles normalement, comme chez le Sarrasin.

Par conséquent nous constatons à l'obscurité une perte de sucres totaux, perte qui s'explique très facilement par les conditions anormales d'existence dans lesquelles se trouvent les plantes.

RÉSUMÉ. — Pour mieux comprendre la relation étroite qui existe entre les glucosides flavoniques et anthocyaniques, et les autres composés hydrocarbonés à différents stades de développement des plantes et dans diverses circonstances : plantes étiolées, plantes colorées à la lumière et enfin plantes décolorées à l'obscurité, nous ajoutons à la dernière série d'expériences les dosages faits sur les plantules étiolées dont

	SARRASIN ARGENTÉ.					BLÉ DE BORDEAUX.				
	Étiolé.	Rouge vif.	Rouge noirâtre obscurité 7 jours.	Faible- ment rouge obscurité 10 jours.	Décoloré obscurité 16 jours.	Étiolé.	Rouge- violacé.	Rouge obscurité 8 jours.	Faible- ment rouge obscurité 19 jours.	Décoloré obscurité 25 jours.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides flavoniques et anthocyaniques.	2,091	2,494	1,660	1,200	0,722	2,259	2,550	0,863	0,605	0,380
Sucres réducteurs	15,854	9,506	5,826	2,123	1,305	13,752	8,778	2,734	1,445	1,212
Sucres non réducteurs	2,451	1,469	0,900	0,327	0,000	2,701	1,724	0,538	0,000	0,000
Amidons	23,872	11,105	9,102	8,860	7,201	7,711	19,888	13,831	13,155	11,481
Celluloses	1,151	1,577	2,463	2,693	1,868	1,370	2,302	3,398	2,831	1,537
Sucres totaux	45,332	26,151	19,951	15,203	11,096	27,793	35,252	21,364	18,036	14,610

nous exposons les résultats dans un tableau d'ensemble. Les nombres de ce tableau (p. 366) sont rapportés à 100 grammes de substance sèche.

L'examen des nombres de ce tableau met en évidence les conclusions suivantes :

1^o *Glucosides flavoniques et anthocyaniques.* — Les glu-

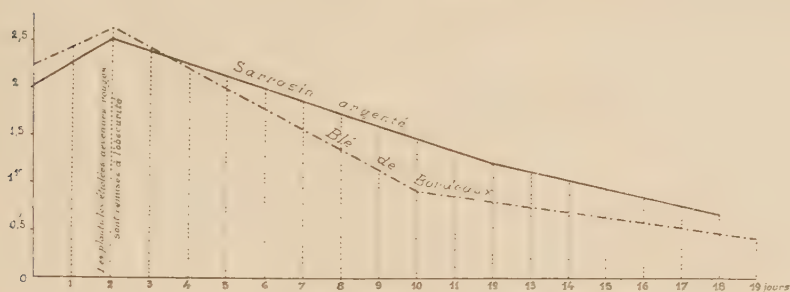


Fig. A. — Glucosides flavoniques et anthocyaniques.

—— Sarrasin argenté. — — — Blé de Bordeaux.

cosides flavoniques se trouvent en quantité appréciable dans les plantules étioilées.

Ils se transforment partiellement ou totalement en glucosides anthocyaniques lorsque les plantules rougissent progressivement à la lumière, et il y a même augmentation de la quantité totale de glucosides. Ces composés disparaissent sensiblement à l'obscurité.

2^o *Sucres réducteurs.* — La quantité des sucres réducteurs,

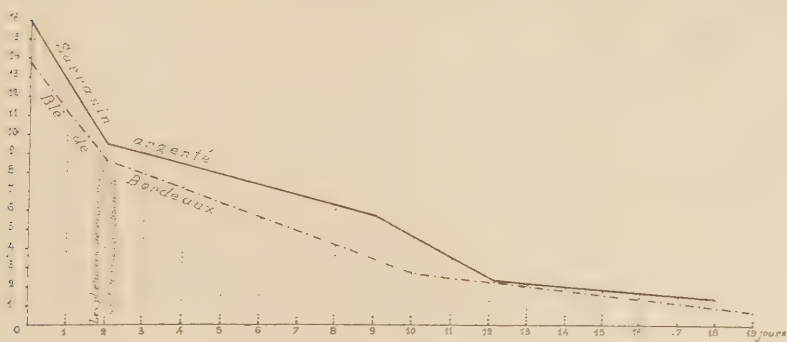


Fig. B. — Sucres réducteurs.

—— Sarrasin argenté. — — — Blé de Bordeaux.

considérable dans les plantes étioilées, diminue brusquement à mesure que les plantes rougissent à la lumière et continue

à diminuer encore quand les plantes sont replacées à l'obscurité.

3° *Sucres non réducteurs.* — Les sucres non réducteurs,

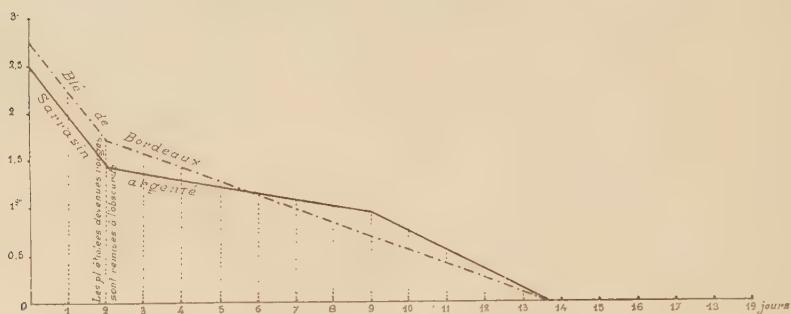


Fig. C. — Sucres non réducteurs.

—— Sarrasin argenté. — — — — Blé de Bordeaux.

en quantité relativement faible dans les plantules étiolées, diminuent dans les plantes colorées à la lumière et disparaissent complètement par un nouveau séjour à l'obscurité.

4° *Amidons.* — Les variations de la quantité des amidons ne sont pas les mêmes pour les deux espèces étudiées.

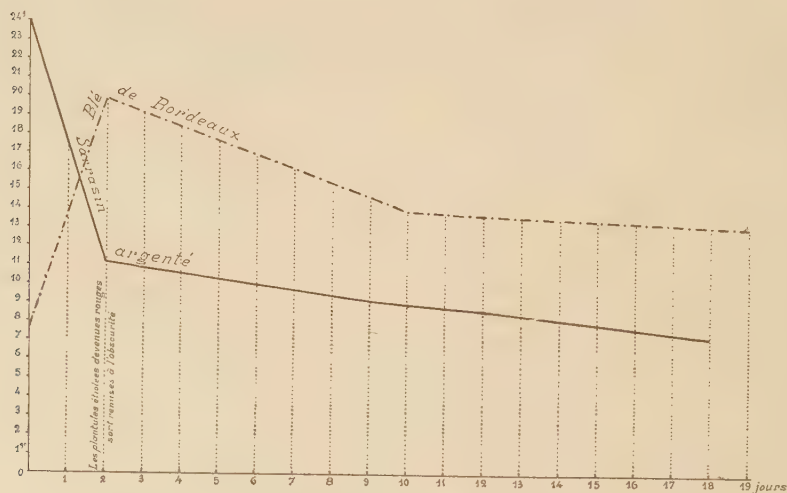


Fig. D. — Amidons.

—— Sarrasin argenté. — — — — Blé de Bordeaux.

Chez le Sarrasin, les amidons évoluent absolument de la même façon que les sucres réducteurs, diminuant à la lumière, et continuant à diminuer à l'obscurité.

Chez le Blé, les amidons suivent la même voie d'évolution que les glucosides : augmentation importante d'amidon dans les plantules rouges, diminution dans les plantules redevenues incolores à l'obscurité.

5° *Celluloses*. — Les celluloses, en petite quantité dans les plantules étiolées, augmentent dans celles qui se

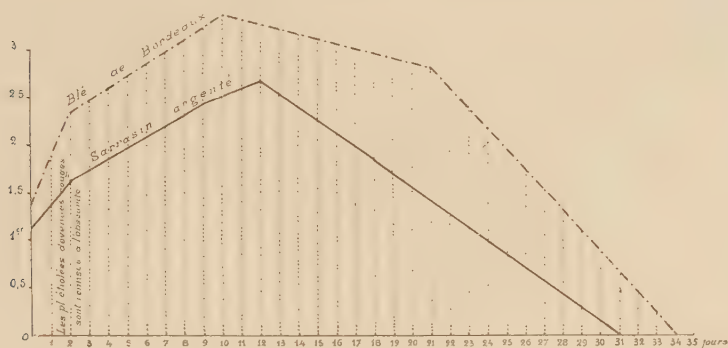


Fig. E. — Celluloses.

—— Sarrasin argenté. ——— Blé de Bordeaux.

pigmentent à la lumière. Cette augmentation continue à se produire pendant les premiers jours d'exposition à l'obscurité, mais est remplacée par une diminution, comme pour toutes les autres catégories de substances hydrocarbonées, quand le séjour à l'obscurité se prolonge.

6° *Sucres totaux*. — La règle générale est que la quantité totale des sucres diminue graduellement dans les plantules rouges et dans celles qui se décolorent à l'obscurité ; nous avons vu que, chez le Blé, il y a parfois une exception que nous avons expliquée ; la proportion augmente dans les plantules qui rougissent, mais finit toujours par diminuer sensiblement à l'obscurité.

EXPÉRIENCES SUPPLÉMENTAIRES SUR DES PLANTULES APRÈS ABLATION DES COTYLÉDONS ET DES RACINES.

Les expériences faites jusqu'à présent avec le Sarrasin ont été effectuées sur des plantules qui avaient tous leurs organes : racines, axe hypocotylé et cotylédons. Mais, comme

la présence de ces cotylédons verts peut modifier, par suite de l'assimilation, la teneur en composés hydrocarbonés pendant la formation de l'anthocyane, nous nous sommes proposés d'exécuter des expériences dans lesquelles on supprimerait les cotylédons. D'autre part, le système des racines, qui emploie une partie des substances hydrocarbonées à son développement, apporte aussi des changements dans la quantité de ces composés pendant la formation de l'anthocyane ; c'est pourquoi nous avons installé parallèlement aux expériences précédentes d'autres recherches dans lesquelles on supprime à la fois les cotylédons et les racines pour ne laisser que les axes hypocotylés, chez lesquels l'anthocyane se développe quand ils sont exposés au soleil.

1. — Plantules sans cotylédons.

Nous avons préparé pour ces expériences trois lots de germinations étiolées. Nous coupons alors les cotylédons dans ces trois lots ; puis, dans un premier lot, nous dosons immédiatement les glucosides et les autres composés hydrocarbonés. Les deux autres lots sont alors exposés à la lumière pour obtenir la formation d'anthocyane. Les plantules étaient cultivées dans des pots et arrosées de temps en temps. Par leurs racines, elles tiraient l'eau et les sels minéraux de la terre, de façon qu'elles restaient toujours fraîches. Les cotylédons n'existant plus, il n'y avait aucune assimilation, donc aucun apport de substances hydrocarbonées dans les axes hypocotylés, où l'anthocyane se formait. Au bout de deux jours d'exposition à la lumière, le pigment s'était très bien formé, et les plantules présentaient une teinte rouge vif.

Dans un de ces deux lots, nous avons alors dosé les glucosides et les autres substances hydrocarbonées, tandis que l'autre lot de plantules rouges était replacé à l'obscurité, où il fut laissé pendant six jours. Nous avons observé tous les jours les plantules pour voir les modifications extérieures qui s'y produisaient. A l'obscurité, les axes hypocotylés ne s'allongent plus, la coloration diminue, mais lentement. Au bout de cinq à six jours, la coloration rouge vif a disparu

complètement et a été remplacée par une coloration rouge noirâtre. Sur ces dernières plantules, nous avons alors exécuté les mêmes dosages que sur les lots précédents.

2. — Axes hypocotylés seuls.

D'autres expériences ont été faites parallèlement aux précédentes de la façon suivante :

Nous avons isolé les axes hypocotylés des plantules étiolées en coupant les racines et les cotylédons, et nous les avons alors partagés en trois lots.

Sur le premier lot, nous avons effectué de suite les mêmes dosages que dans la première série. Les plantes des deux autres lots ont été préparées comme il suit.

Nous les avons placées avec soin, de façon qu'elles ne soient pas trop serrées les unes contre les autres sur une tarlatane qui recouvrait un cristallisoir à peu près plein d'eau. Les cristallisoirs étaient placés sur une table exposée au soleil, et ils étaient recouverts par de hautes cloches, pourvues d'un orifice à leur sommet pour permettre le libre accès de l'air extérieur. De cette façon, les plantules n'étaient pas dans l'eau, mais les cloches placées sur les cristallisoirs leur assuraient une humidité suffisante les empêchant de se faner et leur permettaient de se conserver plusieurs jours, en bon état. Pendant les jours chauds de juillet et d'août pour éviter une température trop élevée à l'intérieur des cloches, on faisait couler sur ces cloches, à leur extérieur, un courant d'eau fraîche. Par ce dispositif, les plantules, quoique exposées à la lumière intense du soleil, ne souffraient pas d'une température trop élevée.

Ces plantes, qui n'avaient d'autres substances que celles qu'elles contenaient au moment de leur isolement, rougissaient normalement en deux jours aussi bien que des plantules conservées intactes. Il n'y avait, dans ces plantules, ni migration de substances provenant des cotylédons, ni apport d'eau absorbée par la racine. Après deux jours passés dans ces conditions, les plantules avaient une teinte d'un

rouge vif comme toutes les autres sur lesquelles nous avons expérimenté jusqu'à présent.

Au bout de ces deux jours, nous avons effectué les dosages habituels sur un des deux lots. En même temps, nous avons mis l'autre lot à l'obscurité. Sur ce dernier, les changements de coloration se sont produits à peu près comme dans le lot correspondant de notre première série d'expériences. Nous avons opéré deux dosages successifs : l'un sur une première portion du lot après trois jours d'obscurité et l'autre sur la seconde portion après six jours.

Les glucosides extraits des plantules décolorées à l'obscurité, précipités par l'acétate neutre de plomb, montrent un changement de coloration très caractéristique. La couleur de ces corps précipités n'est plus d'un vert foncé, comme c'est le cas pour les plantules rouges à la lumière ; cette coloration est d'un vert jaune assez marqué.

Après l'hydrolyse de ces glucosides à l'autoclave par l'acide sulfurique, la liqueur acide prend une coloration rouge noirâtre intense, tandis que la coloration de la liqueur des glucosides anthocyaniques provenant des plantules rouges à la lumière est d'un rouge franc.

Ces indications montrent que les glucosides ont subi des transformations dans leur nature chimique, quand les plantules ont été obligées de vivre à l'obscurité. D'autre part, les dosages dont nous indiquons les résultats ci-dessous mettront en évidence une diminution très prononcée de ces glucosides pendant le séjour des plantules à l'obscurité.

PREMIÈRE SÉRIE D'EXPÉRIENCES (15 JUILLET).

Dans ces expériences, nous avons fait porter nos dosages sur des plantules étiolées et des plantules rouges.

Dans une première expérience, les dosages ont été faits sur des échantillons auxquels nous avons enlevé les cotylédons ; dans la seconde, ces dosages ont été effectués sur les axes hypocotylés seuls.

1° *Plantules sans cotylédons.*

	GLUCOSIDES.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin étioilé :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,100	0,290	0,081	0,348	0,065	0,884
100 grammes substance sèche.....	2,316	6,672	1,868	8,007	1,334	20,197
<i>Sarrasin rouge :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,111	0,066	0,000	0,328	0,101	0,606
100 grammes substance sèche.....	2,577	1,522	0,000	7,532	2,324	13,955

2° *Axes hypocotylés seuls.*

	GLUCOSIDES.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin étioilé :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,104	0,634	0,051	0,411	0,088	1,288
100 grammes substance sèche.....	2,446	14,914	1,208	9,665	2,072	30,305
<i>Sarrasin rouge :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,084	0,159	0,034	0,380	0,074	0,731
100 grammes substance sèche.....	2,411	4,575	1,000	10,951	2,411	21,348

Cette série d'expériences a pour but de montrer les variations des glucosides et des autres composés hydrocarbonés pendant le rougissement des plantules opérées comme nous l'avons décrit plus haut.

DEUXIÈME SÉRIE D'EXPÉRIENCES (13 AOÛT).

Des plantules rouges semblables à celles des expériences précédentes ont été replacées à l'obscurité, puis analysées :

1° *Plantules sans cotylédons.*

	GLUCOSIDES.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin étioilé :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,098	0,392	0,057	0,391	0,119	1,057
100 grammes substance sèche.....	1,915	7,671	1,116	7,645	2,337	20,684
<i>Sarrasin rouge :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,123	0,242	0,000	0,423	0,132	0,920
100 grammes substance sèche.....	2,671	5,237	0,000	9,187	2,872	19,967
<i>Sarrasin rouge. 6 jours à l'obscurité :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,038	0,144	0,000	0,298	0,090	0,570
100 grammes substance sèche.....	0,832	3,122	0,000	6,844	1,953	12,751

2° *Axes hypocotylés seuls.*

	GLUCOSIDES.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin étioilé :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,119	0,551	0,076	0,491	0,131	1,368
100 grammes substance sèche.....	2,420	11,137	1,536	9,920	2,654	27,667
<i>Sarrasin rouge :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,130	0,420	0,063	0,487	0,121	1,221
100 grammes substance sèche.....	2,856	9,181	1,397	10,648	2,654	26,736
<i>Sarrasin décoloré. 6 jours à l'obscurité :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,009	0,184	0,000	0,350	0,062	0,605
100 grammes substance sèche.....	0,194	4,042	0,000	7,666	1,362	13,265

EXPÉRIENCES DE CONTRÔLE (2 SEPTEMBRE).

Les expériences suivantes ont été faites en partant des plantules rouges, dont les racines et les feuilles ont été coupées. Les axes hypocotylés rouges ont été mis à l'obscurité ; puis on en a fait deux dosages successifs après trois jours et six jours d'obscurité.

Axes hypocotylés seuls.

	GLUCOSIDES.	SUCRES réducteurs.	SUCRES non réducteurs.	AMIDONS.	CELLULOSES.	SUCRES totaux.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
<i>Sarrasin rouge :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,224	0,475	0,098	0,640	0,085	1,522
100 grammes substance sèche.....	2,931	6,207	1,293	8,362	1,120	19,913
<i>Sarrasin décoloré.</i> <i>3 jours à l'obscurité :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,012	0,413	0,087	0,723	0,105	1,340
100 grammes substance sèche.....	1,316	4,194	0,888	7,334	1,064	14,796
<i>Sarrasin décoloré.</i> <i>6 jours à l'obscurité :</i>						
100 grammes substance fraîche....	0,022	0,309	0,041	0,522	0,054	0,948
100 grammes substance sèche.....	0,260	3,614	0,484	6,110	0,633	11,101

Les résultats consignés dans ces tableaux concordent, en général, avec ceux des expériences faites sur des plantules intactes de Sarrasin. Pourtant il y a de petites différences dont nous donnerons l'explication plus loin.

1. *Glucosides flavoniques et anthocyaniques.* — La quantité de ces corps chez les plantules étiolées ainsi coupées est à peu près la même que chez les plantules intactes. Cette quantité augmente dans les plantules rouges ; on y constate

même que l'augmentation est plus importante que chez les plantules rouges intactes. A l'obscurité, on constate le même phénomène que chez les plantules intactes. Les glucosides flavoniques et anthocyaniques diminuent sensiblement dans les plantules dont on a enlevé soit les cotylédons, soit à la fois la racine et les cotylédons. La diminution est beaucoup plus accentuée chez ces derniers sujets d'expériences.

2. *Sucres réducteurs et non réducteurs.* — Les premiers diminuent progressivement dans les plantules rouges et dans celles qui se décolorent à l'obscurité ; les seconds diminuent aussi dans ces plantules jusqu'à disparition complète.

3. *Amidons.* — Cette catégorie de corps évolue en général, dans ces dernières expériences, d'une manière un peu autre que dans les premières. On constate, en effet, que la quantité d'amidons augmente un peu dans les plantules rouges. Citons un exemple.

Dans l'expérience du 13 août, la quantité d'amidon, rapportée à 100 grammes de substance sèche, est de 7^{gr},645 chez les plantules étiolées, à feuilles coupées, et elle monte à 9^{gr},187 chez les plantules rouges ; augmentation : 1^{gr},542. Chez les axes hypocotylés étiolés, la quantité de ces corps monte de 9^{gr},920 à 10^{gr},648 dans ceux devenus rouges ; augmentation : 0^{gr},728.

Cette augmentation d'amidon par rapport aux plantes intactes, dans ces deux cas, trouve facilement son explication.

Les feuilles sont le siège des phénomènes les plus divers et les plus intenses : assimilation, respiration, transpiration, etc... Chez les jeunes plantes sur lesquelles nous expérimentons, ces feuilles sont représentées par les deux cotylédons verts. Ces phénomènes complexes se produisent avec une grande consommation d'amidons. Quand ils sont supprimés ou réduits dans leur intensité à la suite de la suppression des feuilles, la diminution des amidons l'est également, et même une augmentation peut se produire aux dépens des sucres, puisque nous avons vu que ces dernières substances diminuent sensiblement quand les plantes rougissent.

Lorsque les plantules rouges sont obligées de vivre à l'obscurité,

rité, l'amidon diminue régulièrement et progressivement avec la prolongation du séjour dans ces conditions comme dans les premières expériences faites sur les plantules intactes.

4. *Celluloses*. — Ces substances ne se comportent pas tout à fait de la même manière que chez les plantules intactes. Quand les plantules étiolées sont mises à rougir, le phénomène est le même ; notons ce détail que, dans les plantes privées de leurs cotylédons seulement, l'augmentation est plus grande que chez celles qui sont réduites à leur axe hypocotylé. Mais, quand on replace à l'obscurité les échantillons soumis aux expériences, on ne constate plus, comme chez les plantules intactes, une augmentation des celluloses. Le fait est très explicable ; les plantules privées soit de cotylédons seuls, soit de leurs cotylédons et de leurs racines à la fois, ne s'allongent plus ; il ne se forme plus dès lors de tissus cellulosiques nouveaux, et même les celluloses vont alors en diminuant comme les autres corps hydrocarbonés.

5. *Sucres totaux*. — En général, dans ces dernières expériences, la quantité des sucres totaux varie très peu chez les plantules étiolées et chez celles devenues rouges. On le voit surtout dans l'expérience du 13 août, où l'on constate que ces sucres diminuent seulement de 0^{gr},717 chez les plantules rouges sans cotylédons et de 0^{gr},931 chez les axes hypocotylés rouges. Ces très faibles différences tiennent au fait que les plantules sont dépourvues de cotylédons qui utilisaient une grande partie de ces substances.

A l'obscurité, les sucres totaux diminuent aussi progressivement avec la prolongation de la végétation des plantes privées de lumière.

Toutes nos expériences mettent surtout en évidence le fait que les glucosides flavoniques et anthocyaniques diminuent sensiblement quand les plantules qui les contiennent sont obligées de vivre à l'obscurité. Ce sur quoi nous voulons particulièrement attirer l'attention, c'est sur la proportion dont diminue le poids des glucosides quand les plantes rouges sont remises à l'obscurité, car, pour les autres composés hydrocarbonés, leur disparition est un fait connu dans les conditions de nos expériences. La disparition de ces derniers

composés est attribuée à leur rôle nutritif dans ces conditions anormales d'existence.

Nous donnons ici un tableau des pertes subies par chaque catégorie des corps que nous avons dosés dans nos expériences.

PLANTES ROUGES REPLACÉES A L'OBSCURITÉ.

	<i>Sarrasin.</i>		
	Plantules intactes.	Plantules sans feuilles.	Axes hypocotylés.
1. Glucosides flavoniques et anthocyaniques	78 p. 100.	68 p. 100.	92 p. 100.
2. Sucres réducteurs.....	86 —	40 —	49 —
3. Sucres non réducteurs.....	100 —	100 —	100 —
4. Amidons	43 —	25 —	26 —
5. Celluloses.....	30 —	32 —	46 —

Blé de Bordeaux.

1. Glucosides flavoniques et anthocyaniques.....	83 p. 100.
2. Sucres réducteurs.....	86 —
3. Sucres non réducteurs	100 —
4. Amidons.....	42 —
5. Celluloses.....	54 —

Ces proportions nous donnent une idée de la quantité que chaque catégorie de ces substances perd quand les plantules séjournent à l'obscurité. Pour les plantules intactes de Sarrasin, les glucosides viennent en troisième ligne après les sucres non réducteurs et sucres réducteurs ; pour les plantules sans feuilles et pour les axes hypocotylés de la même espèce, les glucosides viennent en deuxième ligne, les sucres non réducteurs étant en première.

Pour le Blé, les glucosides viennent aussi en troisième ligne, comme pour les plantules intactes de Sarrasin.

Par conséquent, les glucosides flavoniques et anthocyaniques perdent la plus grande partie de leur totalité quand les plantes qui les contiennent sont obligées de vivre à l'obscurité. Dans ces conditions anormales, les plantes sont forcées d'utiliser leurs réserves. La diminution de celles de ces substances dont le rôle est bien connu dans ces circonstances en est une preuve certaine. Le fait que les glucosides anthocyaniques diminuent d'une façon concomitante avec les

autres catégories de substances dans les conditions de nos expériences peut-il nous conduire à affirmer que ces corps jouent le même rôle ? Voilà la question à laquelle nous nous proposons de répondre.

AUTRE PROCÉDÉ D'EXTRACTION DES GLUCOSIDES.

Dans toutes les expériences que nous venons d'exposer, nous avons dosé à la fois les glucosides et les autres composés hydrocarbonés pour montrer la relation étroite qui existe entre ces diverses catégories de substances dans la succession des conditions auxquelles ont été soumises les plantes. Ces expériences suffisent pour nous faire une idée assez exacte de cette relation, mais elles ne nous donnent pas la quantité totale de ces divers corps. Les chauffages prolongés et réitérés, soit dans l'alcool, soit dans des acides dilués, détruisent une certaine quantité de ces substances, de sorte qu'à la fin des opérations on n'a pas la quantité totale qui existait au début dans les tissus des plantes. Malgré ces inconvénients, les proportions se maintiennent ainsi que la relation établie par nous entre ces catégories de substances.

Par la méthode que nous décrivons plus bas, nous nous sommes proposé d'extraire et de doser plus exactement les glucosides flavoniques et anthocyaniques dans les plantules ²²étiolées, les plantules devenues rouges, et dans celles qui ont rougi à la lumière, puis ont été placées de nouveau à l'obscurité. Par cette méthode, le chauffage a été réduit au minimum possible, deux minutes au plus.

Extraction des glucosides. — Une certaine quantité de plantules fraîches, réduites en minces morceaux, est reçue dans un grand flacon d'Erlenmeyer qui contient de l'alcool à 95° bouillant ; on chauffe deux minutes au maximum. On laisse les plantules au contact de l'alcool vingt-quatre heures, après lesquelles on filtre la solution alcoolique qui a dissous tous les glucosides. On lave les fragments des plantes sur le filtre deux fois avec de l'alcool bouillant et enfin avec de l'alcool froid ; on réunit ces solutions de lavage à la première.

C'est dans cette solution qu'il faut chercher les glucosides. Comme la quantité de solution alcoolique ainsi obtenue est trop grande, on la réduit à un très faible volume par une rapide distillation sous pression et à une température basse qui ne doit pas dépasser 50°. Cette solution, complètement refroidie, est traitée par l'éther (quatre à cinq fois le volume de la solution alcoolique). L'éther précipite une grande partie de ces glucosides, mais non pas tous. Il se forme alors un précipité sirupeux ; on laisse cette solution en repos vingt-quatre heures pour que tout le précipité soit complètement déposé. On décante la liqueur éthérée, qu'on garde pour un traitement ultérieur.

1. Le précipité sirupeux est repris par l'alcool à 95° bouillant, qui dissout les glucosides ; il reste non dissoute une quantité encore importante du précipité (1).

La solution alcoolique filtrée dans laquelle se trouvent dissous ces corps a une belle coloration jaune ou rouge suivant que les glucosides sont flavoniques ou anthocyaniques. Enfin nous traitons la solution par l'acétate de plomb rigoureusement neutre qui donne un précipité plombique jaune ou vert très abondant ; au bout de quelques heures, ce précipité, constitué par les glucosides, se dépose complètement au fond du vase, et le liquide alcoolique situé en dessus reste parfaitement incolore. On filtre et, après plusieurs lavages du précipité avec de l'alcool froid, on reprend ce précipité par l'acide sulfurique dilué à 7 p. 100 et bouillant, comme nous l'avons fait dans les premières expériences. Les glucosides repris par cette solution sont alors hydrolysés à l'autoclave, puis dosés à l'état de sucres réducteurs, par la méthode de Bertrand. Ces sucres correspondent à la quantité des glucosides obtenus par ce procédé.

(1) Au fond du vase, après le traitement par l'alcool, il reste un précipité d'une teinte sale qui est soluble dans l'eau et dans les acides dilués. Ce résidu, traité par l'eau distillée, donne une solution d'un jaune pâle, qui a une saveur amère et qui, fortement agitée, produit une mousse très abondante et longtemps persistante. Ce même résidu, traité par l'acide sulfurique dilué à 7 p. 100 et hydrolysé à l'autoclave pendant une heure et à 120°, donne une quantité importante de sucres réducteurs.

Les sucres réducteurs provenant de ce résidu n'ont jamais été comptés dans nos résultats.

2. Quant à la solution qui contient les glucosides non précipités au début par l'éther, elle est traitée directement par l'acétate neutre de plomb. Tous les glucosides restés dans l'éther sont précipités sous forme de sel de plomb. On continue le traitement comme il vient d'être expliqué plus haut, et finalement ces glucosides sont dosés à l'état de sucres réducteurs.

En additionnant ces deux catégories de glucosides, on obtient les glucosides totaux renfermés dans la quantité des plantules fraîches, sur laquelle ont porté nos expériences. Le poids sec a été fait de la même façon que dans les premières expériences. La quantité totale de glucosides est toujours rapportée à 100 grammes de substance fraîche et 100 grammes de substance sèche.

La quantité de glucosides flavoniques et anthocyaniques que nous trouvons par cette méthode est beaucoup plus grande que dans les premières recherches.

Nous donnons ci-dessous les tableaux des résultats obtenus pour les plantules de Sarrasin et de Blé étiolées, rouges et décolorées à l'obscurité. La durée du séjour à l'obscurité a été de six, puis de treize jours.

EXPÉRIENCE DU 2 SEPTEMBRE 1921.

Sarrasin.

	SARRASIN étioilé.		SARRASIN rouge.		SARRASIN décoloré 6 jours à l'obscurité.		SARRASIN décoloré 13 jours à l'obscurité.	
	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides flavoniques et anthocyaniques, précipités par l'éther dissous dans l'alcool et reprécipités par l'acétate de plomb.....	0,243	2,990	0,200	2,922	0,123	1,119	0,037	0,816
Glucosides précipités directement par l'acétate de plomb..	0,205	2,513	0,210	3,128	0,137	2,364	0,166	2,371
Glucosides totaux.....	0,448	5,503	0,410	6,050	0,260	3,483	0,223	3,187

EXPÉRIENCE DU 24 SEPTEMBRE 1921.

Sarrasin.

	SARRASIN étiolé.		SARRASIN rouge.		SARRASIN décoloré 6 jours à l'obscurité.		SARRASIN décoloré 14 jours à l'obscurité.	
	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides flavoniques et antho- cyaniques précipités par l'é- ther, dissous dans l'alcool et reprécipités par l'acétate de plomb.....	0,240	3,985	0,205	3,863	0,066	1 170	0,065	0,919
Glucosides précipités directe- ment par l'acétate de plomb..	0,182	2,289	0,151	2,840	0,083	1,698	0,118	1,661
Glucosides totaux.....	0,423	6,274	0,356	6,703	0,149	2,868	0,183	2,580

Les glucosides des plantules décolorées à l'obscurité pendant treize à quatorze jours, précipités par l'éther, dissous dans l'alcool et reprécipités par l'acétate neutre de plomb, ne donnent pas la coloration verte caractéristique des glucosides anthocyaniques. La coloration de ces corps est d'un jaune légèrement verdâtre. Ce changement de coloration de vert en jaune est un nouveau fait qui manifeste la disparition très nette des glucosides anthocyaniques, disparition mise en évidence par les dosages indiqués ci-dessus.

Le changement de coloration déjà indiqué chez le Sarrasin pour les glucosides précipités par l'acétate de plomb chez les plantules qui ont été décolorées à l'obscurité, est encore plus frappant chez le Blé. Le précipité glucosidique plombique des plantules étiolées présente une coloration jaune foncé ; chez les plantules devenues rouges à la lumière, cette couleur est d'un vert intense ; chez les plantules replacées à l'obscurité, la coloration devient d'un vert jaunâtre au bout de dix jours et tout à fait jaune au bout de vingt jours, toute teinte verte ayant disparu.

EXPÉRIENCE DU 1^{er} OCTOBRE.*Blé de Bordeaux.*

	BLÉ étioilé.		BLÉ rouge.		BLÉ décoloré 10 jours à l'obscurité.		BLÉ décoloré 20 jours à l'obscurité.	
	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides flavoniques et antho- cyaniques précipités par l'é- ther, dissous dans l'alcool et reprécipités par l'acétate de plomb.....	0,806	3,670	0,176	2,220	0,036	0,398	0,035	0,289
Glucosides précipités directe- ment par l'acétate de plomb..	0,352	1,604	0,244	3,143	0,097	1,041	0,067	0,560
Glucosides totaux.....	1,158	3,274	0,420	0,363	0,133	1,439	0,102	0,849

EXPÉRIENCES SUR LES FEUILLES ROUGES D'*Ampelopsis
hederacea*.

Des expériences semblables aux précédentes ont été aussi faites avec les feuilles rouges de Vigne vierge (*Ampelopsis hederacea*). Dans ce but, nous avons récolté deux lots de feuilles rouges. Sur l'un de ces deux lots, nous avons dosé les glucosides immédiatement après la récolte ; le second lot a été préparé de la manière suivante : les feuilles rouges d'*Ampelopsis* ont été mises dans un cristalliseur qui contenait de l'eau, de façon que les pétioles des feuilles seulement soient trempés dans l'eau. Le cristalliseur couvert d'une cloche qui était pourvue d'un orifice ouvert à sa partie supérieure a été placé à l'obscurité. Dans ces conditions, les feuilles se conservent très bien pendant deux semaines. Au bout d'un certain temps, que nous indiquerons dans nos expériences, nous avons effectué les mêmes dosages de glucosides qu'auparavant.

A l'obscurité, la coloration rouge a disparu aussi ; après quelques jours, la coloration des feuilles est devenue d'un rouge jaunâtre, et enfin, quand l'obscurité a été prolongée

plus longtemps, la coloration est devenue d'un jaune brun. Du reste, on ne peut pas observer distinctement la dispari-

EXPÉRIENCE DU 25 SEPTEMBRE.

Feuilles rouges d'*Ampelopsis hederacea*.

	FEUILLES ROUGES à la lumière.		FEUILLES ROUGES à l'obscurité 7 jours.	
	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides précipités par l'éther solu- bles dans l'alcool et reprécipités par l'acétate de plomb	1,273	7,021	0,457	1,543
Glucosides précipités directement par l'acétate de plomb.....	0,105	<i>0,579</i>	0,182	<i>0,673</i>
Glucosides totaux.....	1,378	7,600	0,639	2,216

EXPÉRIENCE DU 30 SEPTEMBRE.

Feuilles rouges d'*Ampelopsis*.

	FEUILLES ROUGES à la lumière.		FEUILLES ROUGES à l'obscurité 9 jours.	
	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.	100 gr. sub- stance fraîche.	100 gr. sub- stance sèche.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides précipités par l'éther solu- bles dans l'alcool et reprécipités par l'acétate de plomb.....	1,112	6,400	0,145	0,489
Glucosides précipités directement par l'acétate de plomb.....	0,145	<i>0,795</i>	0,169	<i>0,570</i>
Glucosides totaux.....	1,257	6,895	0,314	1,059

tion de la couleur rouge initiale à cause des autres pigments que renferment les feuilles.

Dans le tableau ci-dessous nous reproduisons les résul-

tats de ces deux expériences faites seulement sur les feuilles rouges, à la lumière, en les comparant à ceux d'une troisième expérience faite le 10 octobre aussi sur des feuilles rouges, à la lumière. L'expérience du 25 septembre a été faite quand l'anthocyane était complètement formée dans les feuilles, en d'autres termes, les feuilles contenaient la plus grande quantité d'anthocyane; les expériences du 30 septembre et du 10 octobre ont été faites sur des feuilles qui avaient rougi en même temps que les premières, mais sur lesquelles nous avons porté nos expériences à un intervalle plus avancé du rougissement; l'expérience du 10 octobre a été faite sur des feuilles rouges qui étaient sur le point de tomber.

Feuilles rouges d'*Ampelopsis*.

	25 SEPTEMBRE.		30 SEPTEMBRE.		10 OCTOBRE.	
	100 gr. substance fraîche.	100 gr. substance sèche.	100 gr. substance fraîche.	100 gr. substance sèche.	100 gr. substance fraîche.	100 gr. substance sèche.
	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.	Gr.
Glucosides précipités par l'éther dissous dans l'alcool et reprecipités par l'acétate de plomb.	1,273	7,024	1,112	6,400	0,314	1,931
Glucosides précipités par l'acétate de plomb.....	0,105	0,579	0,145	0,795	0,161	0,989
Glucosides totaux..	1,378	7,600	1,257	6,895	0,475	2,920

Ces expériences, faites sur les feuilles rouges d'*Ampelopsis*, à différents stades de rougissement, montrent que l'anthocyane disparaît aussi à la lumière, et elle suit la même voie de diminution que dans les feuilles rouges placées à l'obscurité.

Pour ne pas prolonger cet exposé en citant les expériences faites avec les feuilles d'autres plantes, à divers stades de leur rougissement, nous nous contenterons de rappeler les résultats des expériences faites par Michel-Durand (29) sur les feuilles de *Fagus silvatica*, d'*Ampelopsis hederacea* et de

Betula alba. Cet auteur a dosé les substances hydrocarbonées dans les feuilles, à divers stades de leur développement, aux mois de juin, juillet, septembre, octobre, etc... Nous ne citons que les résultats relatifs aux glucosides obtenus par lui. Pour toutes les feuilles des trois espèces étudiées, la teneur en glucosides flavoniques et anthocyaniques de ces organes est à son maximum pendant la période de septembre; à partir de ce moment, la proportion des composés glucosidiques diminue rapidement jusqu'au dépérissement des feuilles. Ce fait, mis en évidence par Michel-Durand, vient s'ajouter aux résultats publiés dans ce travail.

EXPÉRIENCES SUR LES FLEURS DE *Dahlia*.

Pour compléter nos recherches, nous avons fait aussi des expériences sur les fleurs de *Dahlia*. Des pieds fleuris de cette plante ont été récoltés de la même façon que les feuilles d'*Ampelopsis* et mis à l'obscurité, où on les a laissés séjourner quelque temps.

Les observations faites journellement montrent que la couleur rouge des fleurs subit les mêmes modifications que dans les autres plantes déjà étudiées; la coloration initiale d'un rouge pur est modifiée après trois jours seulement de séjour à l'obscurité; elle prend alors une teinte jaunâtre, et enfin, après sept jours d'obscurité, la coloration des fleurs s'est sensiblement atténuée, en présentant une teinte plutôt jaune brun.

A la décoloration des fleurs correspond aussi, dans ces expériences, une diminution des glucosides, comme le montrent les dosages exposés plus bas.

Nous avons fait trois expériences successives sur les fleurs de *Dahlia*. Chaque expérience contient deux lots de fleurs préalablement pesés et ayant le même poids frais. Dans la première expérience, c'est-à-dire sur des fleurs fraîchement cueillies, nous avons fait immédiatement des dosages témoins des glucosides sur les deux lots. Les quatre autres lots ont été mis en même temps à l'obscurité. Dans la deuxième expérience, nous avons effectué sur deux de ces lots des

dosages de glucosides, après quatre jours d'obscurité. Dans la troisième expérience, les mêmes dosages ont été exécutés sur les deux derniers lots, après sept jours d'obscurité.

Voici les nombres obtenus par ces dosages, rapportés à 100 grammes de substance fraîche et 100 grammes de substance sèche et exprimés dans le tableau ci-contre :

EXPÉRIENCES A L'OBSCURITÉ.													
I ^{re} EXPÉRIENCE (à la lumière).							II ^{re} Expérience : 4 jours d'obscurité.						
4 ^{er} lot.		2 ^e lot.		1 ^{er} lot.		Gr.	100 gr. sub. stance fraîche.		Gr.	100 gr. sub. stance sèche.		Gr.	Gr.
Glucosides flavoniques et anthocyaniques précipités par l'é- ther, dissous dans l'alcool et repréci- pités par l'acétate de plomb.....	0,474	3,745	0,336	4,323	0,473	3,279	0,233	3,849	0,205	2,908	0,199	2,882	
Glucosides précipités directement par l'acétate de plomb.	0,238	4,213	0,550	3,530	0,438	2,963	0,430	2,876	0,483	2,700	0,414	2,808	
Glucosides totaux...	0,442	7,928	0,886	7,853	0,341	6,242	0,363	6,665	0,388	5,608	0,313	5,690	

III^e Expérience : 7 jours d'obscurité.

Ces dernières expériences, dans lesquelles nous avons perfectionné la méthode d'extraction des glucosides, donnent des résultats plus précis sur la quantité de ces corps renfermés dans les plantes ; mais elles montrent des variations identiques à celles que subissent les anthocyanes dans leur teneur pendant le séjour des plantes à l'obscurité, c'est-à-dire *la même diminution des glucosides*.

Chez toutes les espèces étudiées, on constate la disparition partielle des glucosides flavoniques et anthocyaniques, lorsque les plantes vivent à l'obscurité. Chez les plantules rouges de Sarrasin, la disparition de ces composés va jusqu'à 4^{gr},123 ; chez le Blé rouge jusqu'à 4^{gr},514 et chez les feuilles d'*Ampelopsis* jusqu'à 5^{gr},836. Pour les fleurs de *Dahlia*, la disparition est moins accentuée et varie de 2^{gr},163 à 2^{gr},615.

Cette diminution des glucosides, relativement faible chez les fleurs de *Dahlia*, tient au fait que les fleurs sont des organes où les phénomènes producteurs d'énergie ont lieu, en général, beaucoup plus lentement que dans les feuilles, chez lesquelles ces phénomènes sont à leur maximum d'activité.

DISCUSSION DES RÉSULTATS

Les anthocyanes étant des glucosides, examinons d'abord brièvement quelles sont les opinions des physiologistes sur le rôle de cette catégorie de corps très répandus chez les végétaux.

On soutient actuellement, à propos des glucosides, deux opinions opposées :

La première hypothèse envisage les glucosides comme des substances nuisibles aux végétaux et n'apparaissant dans les tissus que comme des produits de déchet.

La seconde, au contraire, consiste à admettre que les glucosides, loin d'être nuisibles, sont des produits très utiles dans la vie des plantes et qu'ils prennent une part active aux phénomènes de nutrition chez les végétaux.

Examinons, d'abord, la première hypothèse, et citons, à l'appui, quelques faits constatés expérimentalement.

a. *Persistance et abondance des glucosides dans les feuilles*

un peu avant et après leur chute. — Divers auteurs mesurant chez certaines espèces la teneur en glucosides de feuilles qui étaient sur le point de tomber, y ont trouvé une quantité plus abondante de glucosides que chez les feuilles en pleine activité vitale. Tous les chercheurs, qui ont mis en évidence l'abondance et la persistance des glucosides dans les organes à la veille de périr, en ont conclu que ces corps sont des produits d'excrétion et ne jouent aucun rôle utile pour les plantes. Ce raisonnement ne nous semble pas démonstratif. C'est comme si l'on disait que l'amidon est un produit de déchet en se fondant sur ce qu'une feuille de Platane, par exemple, qui vient de tomber, est encore bourrée de grains d'amidon.

b. Persistance des glucosides dans les organes des plantes qui séjournent un certain temps à l'obscurité. — Tunmann (48), en mettant à l'obscurité des plantes riches en glucosides, et en mesurant la quantité de ces substances après un séjour prolongé des plantes dans ces conditions, a trouvé que la teneur en glucosides ne diminue pas. La quantité de ces composés chez les plantes placées à l'obscurité était la même que chez celles maintenues à la lumière. En s'appuyant sur ces résultats, l'auteur considère les glucosides comme des produits inutiles pour les végétaux.

D'autres chercheurs ont fait des expériences sur le contenu en glucosides de divers organes des plantes au cours de leur végétation. Par leurs recherches, ils n'ont constaté que de faibles variations dans la quantité de ces corps. De ces faits, ils concluent que les glucosides ne sont pas des substances de réserve, mais plutôt des corps indifférents dans les phénomènes de nutrition. Remarquons cependant que l'on a des raisons d'admettre dans bien des cas, en physiologie, la présence souvent difficile à mettre en évidence, d'une substance qui se détruit à mesure qu'elle se forme. Il pourrait se faire qu'il en fût ainsi pour les glucosides.

c. Augmentation des glucosides pendant la germination de certaines graines. — Ce fait a été constaté chez les graines de *Fagus*, de *Solanum*, etc., pendant leurs premiers stades de germination. D'autre part, les expériences de M^{lle} Kor-

sakoff (26), sur la germination des graines de certaines plantes renfermant des glucosides, montrent que la quantité de saponine ne diminue pas pendant ce phénomène.

De tous les arguments cités, il ressortirait que les composés glucosidiques n'ayant aucun rôle dans les phénomènes de germination, croissance, nutrition, etc., sont des substances inutilisables ou même nocives pour les plantes, et qui, par conséquent, s'accumulent dans les organes comme des produits de déchet.

Passons maintenant à l'examen de la seconde opinion qui attribue aux glucosides le rôle de substances utilisées par l'organisme végétal. Nous citerons parmi les partisans de cette manière de voir : Weevers (51), Molisch (33), Treub (47), Verschaffelt (49) et Vintilesco (50). Les faits sur lesquels se sont appuyés ces auteurs pour attribuer un tel rôle aux glucosides sont de divers ordres, et nous considérons les arguments suivants comme présentant le plus d'intérêt.

a. *Formation de glucosides au cours de la photosynthèse.* — On a constaté, chez beaucoup d'espèces, que les glucosides apparaissent dans les organes verts, où se produisent les phénomènes d'assimilation chlorophyllienne. C'est surtout dans les jeunes plantules étiolées exposées à la lumière ou dans les jeunes pousses que se forment, en plus grande abondance, ces glucosides au moment du verdissement de ces organes. Ils apparaissent aussi en quantité importante dans les organes verts adultes que l'on replace à la lumière après les avoir maintenus pendant un certain temps à l'obscurité.

L'accumulation de certains glucosides dans les organes verts pendant le jour et leur diminution pendant la nuit sont considérées aussi comme un argument en faveur de cette opinion. Ces divers faits ont conduit les auteurs à voir dans la formation des glucosides, au cours de l'assimilation chlorophyllienne, un phénomène entièrement analogue à celui de la formation des diverses autres substances nutritives utilisées par les plantes.

b. *Accumulation des glucosides pendant la maturation de certains fruits et dans divers organes persistants des végétaux.*

— Il est bien connu que, au cours de la maturation des fruits et des graines qu'ils renferment, des quantités importantes de diverses substances de réserve se déposent dans ces fruits. Parmi ces substances, on trouve chez beaucoup d'espèces aussi des glucosides en quantité appréciable ; le même fait se produit à la fin de la végétation chez certains arbres : *Fraxinus*, *Ligustrum*, *Populus*, etc. ; dans les tissus de ces plantes, on trouve des quantités importantes de différents glucosides.

Ces corps, accumulés dans les tissus, sont considérés, par les auteurs qui partagent la manière de voir que nous venons d'exposer, comme un dépôt de substances de réserve, qui sont à la disposition des organes en voie de germination ou de développement.

c. *Diminution ou disparition des glucosides au moment de la germination des graines et de la reprise de la végétation des organes vivaces.* — On sait que les graines épuisent leurs substances de réserve pendant leur germination, que ces substances diminuent progressivement à mesure que la germination s'avance, et qu'elles disparaissent au bout d'un certain temps, quand de nouveaux tissus se sont formés. Les glucosides, déposés comme substances de réserve dans les graines, évoluent de la même manière pendant la germination, diminuant d'abord, puis disparaissant complètement. Des expériences ont démontré ce fait chez l'*Æsculus*, chez certaines espèces de *Phaseolus*, *Raphanus*, *Brassica*, etc... Les mêmes constatations ont été faites, en particulier par Weevers, sur la diminution des glucosides dans les organes vivaces qui reprennent leur végétation au printemps. Tous ces faits viennent appuyer d'une manière plus précise l'utilisation de ces composés dans la nutrition de jeunes organes qui se développent. Pour appuyer cette opinion, citons une expérience faite par Weevers. L'auteur a déterminé les variations de l'arbutine et de son produit de dédoublement, l'hydroquinone, avant et après le développement des jeunes pousses de printemps chez le *Vaccinium Vitis-Idæa*. Il a trouvé des quantités importantes d'arbutine dans les feuilles avant le développement des nouvelles pousses, tandis que l'hydroquinone faisait à peu près complètement défaut dans

ces organes. Au contraire, lorsque les jeunes pousses se développaient, la quantité d'arbutine diminuait, tandis que l'hydroquinone commençait à apparaître et augmentait progressivement. Weevers montre que le glucoside *arbutine* est hydrolysé par une diastase qu'il a retirée des tissus de ce sous-arbrisseau pendant sa végétation. Cette diastase scinde le glucoside en un *sucré*, qui est utilisé par les tissus en voie de formation, et en un composé phénolique, l'*hydroquinone*. D'autres faits de même genre appuient encore cette opinion sur le rôle des glucosides comme substances utilisées dans le développement des végétaux.

d. *Diminution et disparition des glucosides pendant le séjour des plantes à l'obscurité et dans les organes qui périssent.* — Des expériences effectuées par plusieurs auteurs ont démontré que, dans nombre de cas, les glucosides diminuent sensiblement et même disparaissent des tissus quand les plantes sont obligées de vivre pendant un certain temps à l'obscurité.

Les expériences de Weevers, effectuées sur la variation de la salicine, sont des plus instructives. L'auteur cultive des branches de *Salix* sectionnées et immergées dans l'eau et ensuite les place à l'obscurité. Dans ces conditions, les dosages mettent en évidence une importante diminution simultanée de glucosides et de glucose. L'auteur a cultivé aussi des bourgeons et des jeunes pousses de divers âges à l'obscurité; en y effectuant des dosages de salicine et de glucose, il a trouvé que ces deux corps diminuent notablement pendant la croissance des pousses à l'obscurité. Des recherches ultérieures ont permis à cet auteur de mettre en évidence dans les tissus de jeunes rameaux de *Salix*, la présence de trois diastases différentes qui opèrent le dédoublement et les transformations de ce glucoside. De ses travaux, Weevers conclut que ce composé glucosidique se comporte comme une substance de réserve.

Enfin, la diminution et même la disparition complète de certains glucosides des feuilles de différentes plantes, qui sont sur le point de périr, sont des indications vraisemblables que ces corps sont utilisés par les tissus.

La disparition des glucosides dans les conditions que

nous venons de citer est donc un fait établi et peut nous conduire d'une façon certaine à la signification physiologique que l'on doit attribuer aux glucosides.

e. *Absorption des composés glucosidiques par les plantes.* — On a fait, dans cette voie des expériences sur les champignons et sur les plantes supérieures.

Les expériences faites sur quelques champignons ont démontré que certains glucosides peuvent servir d'excellents aliments à ces végétaux. D'autres, exécutées sur les Phanérogames, confirment les précédentes et conduisent aux mêmes résultats.

Les cultures de diverses plantes dans des milieux artificiels se sont très bien développées en présence de certains composés glucosidiques. Certains de ces corps, absorbés par les plantes, accélèrent quelques-uns des phénomènes vitaux, par exemple la respiration ; d'autres sont utilisés directement pour la nutrition. Morkowine (37), en étudiant l'influence de certains alcaloïdes et de quelques glucosides sur la respiration des plantes, attribue à ces corps un rôle catalytique dans le phénomène de respiration.

Sigmund (46), en étudiant l'influence de plusieurs glucosides sur la germination de certaines graines, a trouvé que la plupart de ces corps sont très favorables à la germination : tel est le cas pour la populine, la solanine, l'arbutine, l'amygdaline, etc., tandis que d'autres, l'æsculine, l'helléborine, etc., sont très toxiques pour les graines.

De tout cet exposé, nous concluons que les glucosides peuvent être, en général, considérés comme des substances utiles dans la nutrition des végétaux.

Ces connaissances acquises sur le rôle des glucosides, passons aux résultats obtenus par nous dans les expériences effectuées sur les anthocyanes. Notons d'abord que toutes nos expériences ont porté seulement sur les *pigments rouges* des plantules, des feuilles et des fleurs ; nous n'avons pas opéré sur des pigments d'un violet pur ou d'un bleu franc. Par conséquent, nous n'affirmons pas que ces conclusions peuvent être généralisées pour toutes les anthocyanes ; mais

elles ne s'appliqueront qu'aux pigments de ce groupe qui donnent aux organes une coloration *rouge pur*.

D'après nos recherches, les pigments rouges anthocyaniques rentrent dans la catégorie des glucosides qui sont utilisés par les plantes. Les expériences ont porté comme on l'a vu dans le courant du travail :

1° Sur des plantes qui rougissaient complètement d'abord, puis se décoloraient ensuite progressivement ;

2° Sur des plantes qui étaient transportées, et décolorées ensuite à l'obscurité après qu'elles avaient acquis à la lumière une coloration rouge intense. Nos dosages ont toujours mis en évidence que le phénomène de décoloration était accompagné d'une diminution importante des glucosides flavoniques et anthocyaniques. Ce phénomène est tout à fait corrélatif de la disparition des autres composés hydrocarbonés dont le rôle nutritif est actuellement bien connu. Il semble donc plus logique de conclure à la réalité du rôle nutritif des anthocyanes.

A cette conclusion, il est impossible d'objecter que les anthocyanes ont une constitution moléculaire complexe, et que l'on ne connaît pas actuellement de corps aussi compliqués qui soient utilisés par les plantes pour leur nutrition sans être dédoublés. De tels corps doivent au contraire subir un dédoublement donnant des produits plus simples, directement assimilables. N'est-ce pas aussi le cas, même pour des composés plus simples, l'amidon par exemple, qui n'est pas assimilé en nature et dont le rôle alimentaire n'est nullement discuté ?

Ce dédoublement est déjà bien connu pour divers glucosides : amygdaline, sinalbine, etc., sur lesquels agissent des diastases également bien déterminées, émulsine, myrosine, etc...

Les récents travaux de Kurt Noack (39, 40) sur les transformations des anthocyanes et sur le rapport physiologique des flavonols et des anthocyanes montrent indubitablement que ces pigments sont susceptibles d'être dédoublés par des diastases.

Cet auteur a mis en évidence, dans les jeunes feuilles rouges de *Polygonum compactum*, la présence d'une diastase gly-

colytique qui agirait dans les phénomènes d'hydrolyse des anthocyanes contenues dans ces organes. D'autre part, Kurt Noack a démontré que l'émulsine est incapable d'agir sur les anthocyanes ; au contraire, la *tannase*, diastase extraite d'*Aspergillus*, s'est montrée comme un excellent agent d'hydrolyse sur certains composés anthocyaniques. Le résultat de l'hydrolyse des anthocyanes, provoquée par la tannase, est le dédoublement de ces corps en un sucre et en un composant phénolique dépourvu de sucre, une anthocyanidine. Les expériences de cet auteur ont démontré que les anthocyanines : cyanine, pélargonine, malvine, chrysanthémine, sont très facilement hydrolysables par la diastase extraite d'*Aspergillus*.

Les mêmes résultats ont été obtenus pour beaucoup de flavonols existant chez les végétaux.

La disparition des glucosides anthocyaniques dans nos expériences est vraisemblablement due à de semblables phénomènes d'hydrolyse.

La diminution de sucre glucosidique, constatée chez les plantes obligées de vivre à l'obscurité, ne peut être expliquée que par un phénomène d'hydrolyse des anthocyanines. Dans ces conditions, les glucosides anthocyaniques se scindent en un *sucre*, qui est utilisé dans les phénomènes énergétiques, et en un composant de nature phénolique correspondant à une *anthocyanidine*. La première preuve de ce phénomène est amplement faite par nos dosages, qui ont toujours mis en évidence la disparition du sucre glucosidique dans les conditions de nos expériences. Il nous reste à montrer l'existence des composants phénoliques provenant du dédoublement des glucosides anthocyaniques.

En employant la méthode de séparation des anthocyanidines au moyen de l'alcool amylique pur, préconisée par Willstätter, nous avons cherché si, au cours de la disparition du sucre glucosidique, on constate la présence de composants phénoliques libres. Nous avons déjà décrit cette méthode d'extraction à l'occasion de l'existence des anthocyanidines à l'état libre dans les fleurs et les feuilles rouges de quelques plantes. Nous avons appliqué aussi cette méthode

dans les recherches des corps phénoliques qui résultent du dédoublement des glucosides anthocyaniques.

Dans une première série d'expériences, nous avons opéré sur des plantes rouges de Sarrasin et sur des feuilles rouges d'*Ampelopsis* ; dans une seconde série, nous avons expérimenté sur les mêmes plantes décolorées à l'obscurité. Les résultats obtenus ont été comparés entre eux. Si l'on rapproche ces résultats de ceux des dosages des glucosides obtenus avec les mêmes organes, on constate les faits suivants :

1^o Pour les organes d'un rouge vif dans lesquels les glucosides anthocyaniques sont à leur maximum de teneur, les composés phénoliques, extraits par l'alcool amylique et identifiés d'après leurs réactions avec les anthocyanidines, sont relativement en petite quantité et présentent, chez le Sarrasin, une *teinte rouge clair*, chez les feuilles d'*Ampelopsis*, une *teinte rouge-grenadine*.

2^o Pour les mêmes organes décolorés à la suite de leur séjour à l'obscurité, la proportion des glucosides flavoniques et anthocyaniques devient beaucoup moins forte, comme les dosages l'ont montré ; au contraire, la quantité des corps phénoliques libres a beaucoup augmenté. En outre, ces derniers pigments ne présentent plus la coloration rouge initiale caractéristique de chaque espèce ; ils ont une belle coloration *jaune-orange* très intense. Donc, ce pigment lui-même a subi des modifications au cours du séjour des plantes à l'obscurité. Nous avons vu, au cours de nos expériences, qu'un changement de couleur se produisait chez les glucosides des plantes maintenues à l'obscurité, quand on traitait ces glucosides par l'acétate de plomb ou par des acides. Le pigment jaune-orange, obtenu dans l'alcool amylique, qui, d'après les mesures que nous avons faites, est en beaucoup plus grande quantité que celui correspondant aux organes rouges, présente les mêmes caractères que ce dernier. La quantité abondante de pigment phénolique jaune-orange, trouvée dans les organes décolorés à l'obscurité, provient certainement de la transformation des glucosides anthocyaniques, transformation subie pendant le séjour des plantes à l'obscurité et *qui a eu pour résultat la dispa-*

rition du sucre glucosidique et l'enrichissement des organes en composés phénoliques libres.

Nous avons constaté la présence et l'abondance des composés phénoliques libres (anthocyanidines ou leurs pseudo-bases) dans les organes rouges en voie de décoloration. Nous avons observé en même temps la disparition corrélatrice des glucosides flavoniques et anthocyaniques.

Ces faits fournissent une nouvelle preuve du dédoublement des anthocyanes dans ces circonstances.

Rappelons que ce pigment jaune-orange, provenant du dédoublement du glucoside anthocyanique, a été reconnu par Kurt Noack comme une *pseudo-base d'anthocyanidine*. En effet, si l'on chauffe ce pigment avec de l'acide chlorhydrique dilué, il se transforme en un pigment rouge présentant tous les caractères des anthocyanidines, obtenues par l'hydrolyse de l'anthocyanine.

Nous n'insistons pas ici sur ce pigment parce que nous nous en occuperons en détail dans un prochain travail ; cependant, nous mentionnons quelques-unes de ses propriétés pour ne pas le confondre avec les phlobatanins, produits de nature tannoïde qui n'ont rien à faire avec les pseudo-bases, lesquelles sont de nature phénolique. Les propriétés de solubilité des pseudo-bases montrent avec évidence qu'on ne saurait les confondre avec les phlobatanins. Le pigment jaune-orange (pseudo-base) est complètement insoluble dans l'eau, dans l'éther sulfurique, dans l'acide sulfurique concentré ou dilué ; il est à peine soluble dans l'acide chlorhydrique, très soluble, au contraire, dans l'alcool éthylique, l'alcool amylique, l'éther acétique, l'acide acétique et dans les alcalis.

CONCLUSIONS

Nos recherches sur le rôle physiologique des pigments rouges anthocyaniques permettent d'établir les conclusions suivantes.

Pendant la décoloration des organes, les pigments anthocyaniques éprouvent deux sortes de modifications dans leur nature :

1° Quand les organes se décolorent, on constate toujours une diminution importante dans la teneur des composés flavoniques et anthocyaniques, et cette diminution s'accroît progressivement avec la prolongation du séjour des plantes à l'obscurité ou avec la dégradation de la couleur des organes qui vivent à la lumière. La diminution de la quantité de glucosides flavoniques et anthocyaniques est étroitement liée à l'abaissement de la proportion des autres composés hydrocarbonés (sucres réducteurs, sucres non réducteurs, amidons, etc.), dont le rôle physiologique est bien déterminé dans les phénomènes généraux de nutrition.

2° Au cours de la diminution des glucosides flavoniques et anthocyaniques, il se produit dans les organes une grande quantité de composés phénoliques libres ; en outre, on constate dans la nature de ces composés des modifications essentielles qui tiennent aussi à la disparition des glucosides.

Il est donc permis d'admettre, à la suite de ces constatations, que les pigments rouges anthocyaniques forment une catégorie de substances glucosidiques susceptibles d'intervenir dans l'ensemble des phénomènes énergétiques des végétaux. Il est assez difficile de préciser dans quelle catégorie de phénomènes producteurs d'énergie on pourrait classer le rôle physiologique des anthocyanes, mais, quoi qu'il en soit, un fait reste bien démontré : les anthocyanes évoluent et sont susceptibles des mêmes transformations que

les autres composés hydrocarbonés avec lesquels elles sont en étroite relation.

On connaissait la nature et les propriétés chimiques de ces corps, leur mode de formation et leurs affinités avec les flavones et les flavonols ; nos analyses et nos expériences ont mis en évidence la diminution de ces glucosides et les transformations qui se produisent dans les organes rouges en voie de décoloration.

Les anthocyanes des organes rouges doivent donc être rangées non comme des substances de déchet, mais comme des produits utilisables dans le cycle des phénomènes généraux de la vie des végétaux.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

1. ARMSTRONG (Voir 23, KEEBLE).
2. BEAUVERIE (J.), L'état actuel de la question de l'anthocyanine (*Rev. gén. des Sc.*, 26^e année, n^{os} 20 et 24, 1918).
3. BONNIER (G.), De la variation avec l'altitude des matières colorées des feuilles chez une même espèce végétale (*Bull. Soc. de Bot.*, t. XXVII, 103, 1880).
4. BONNIER (G.) et LECLERC DU SABLON, Cours de botanique (*Phanérogames*, p. 596, 1905).
5. BONNIER (G.) et FLAHAULT (Ch.), Sur les variations qui se produisent avec la latitude dans une même espèce végétale (*Bull. Soc. de Bot.*, t. XXV, p. 300, 1878).
6. BOUGET (J.), Observations sur l'optimum d'altitude pour la coloration des fleurs (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXIV, p. 1723, 1922).
7. COMBES (R.), Production expérimentale d'une anthocyane identique à celle qui se forme dans les feuilles rouges en automne, en partant d'un composé extrait des feuilles vertes (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CLVII, p. 1002, 1913).
8. COMBES (R.), Les échanges gazeux des feuilles pendant la formation et la destruction des pigments anthocyaniques (*Rev. gén. de Bot.*, t. XXII, p. 177, 1910).
9. COMBES (R.), Rapports entre les composés hydrocarbonés et la formation de l'anthocyane (*Ann. des Sc. nat.*, 9^e série, p. 275, 1909).
10. DANGEARD (P.), Sur l'origine des vacuoles et de l'anthocyane dans les feuilles du Rosier (*Bull. Soc. de Bot.*, t. LXIX, p. 112, 1922).
11. EVEREST (A.), The anthocyan Pigments (*Sci. Progr. London*, IX, p. 597, 1915).
12. FLAHAULT (Voir 3, G. BONNIER).
13. GRAFE (V.), Studien über das Anthocyan (*Sitzber. d. Wiener Akad.*, p. 115 (1916), 118 (1909), 120 (1911)).
14. GRAFE (V.), Chemie der Pflanzenzelle, Berlin, p. 236, 1922.
15. HERZFELDER (H.), Beiträge zur Frage der Mossfärbungen (*Bot. Zentralbl. Beih. Bot.*, Bd XXXVIII, Heft 3, p. 355, 1921).
16. JONESCO (St.), Les anthocyanidines, à l'état libre, dans les fleurs et les feuilles rouges de quelques plantes (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXIII, p. 426, 1921).
17. JONESCO (St.), Transformation, par oxydation, en pigment rouge des chromogènes de quelques plantes (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXIII, p. 1006, 1921).
18. JONESCO (St.), Transformation d'un chromogène des fleurs jaunes de *Medicago falcata*, sous l'action d'une oxydase (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXV, p. 592, 1922).

19. JONESCO (ST.), Formation de l'anthocyane dans les fleurs de *Cobæa scandens* aux dépens des glucosides préexistants (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXIII, p. 850, 1921).
20. JONES (Voir 23, KEEBLE).
21. LECLERC DU SABLON (Voir 3, G. BONNIER).
22. KATIC (L.), Beitrag zur Kenntniss der Bildung des roten Farbstoffs in vegetativen Organen der Phanerogamen (*Inaug. Dissert.*, Halle, 1905).
23. KEEBLE, ARMSTRONG and JONES, The formation of the anthocyan pigments of Plants (*Proc. Roy. Soc. London*, vol. LXXXVI, p. 308, 1913).
24. KEEBLE, ARMSTRONG and JONES, The formation of the anthocyan pigments of plants (*Proc. Roy. Soc. London*, vol. LXXXVII, p. 413, 1913).
25. KLEBS (G.), Willkürliche Entwicklungsänderungen bei Pflanzen, Iéna, 1903.
26. KORSAKOFF (M.), Recherches biochimiques sur les saponines (*Rev. gén. de Bot.*, t. XXVI, p. 225, 1914).
27. KOZLOWSKI (A.), Formation du pigment rouge de *Beta vulgaris* par oxydation des chromogènes (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXIII, p. 885).
28. MALLISON (H.) (Voir 58, WILLSTÄTER).
29. MICHEL-DURAND, Variation des substances hydrocarbonées dans les feuilles (*Rev. gén. de Bot.*, 1918, et t. XXXI, p. 10, 1919).
30. MIRANDE (M.), Sur l'origine de l'anthocyanine, déduite de l'observation de quelques Insectes parasites des feuilles (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CXLV, p. 1300, 1907).
31. MIRANDE (M.), Influence de la lumière sur la formation de l'anthocyanine dans les écailles des bulbes de Lis (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CLXXV, p. 496, 1922).
32. MOLISCH (H.), Ueber amorphe und kristallisierte Anthocyan (*Bot. Ztg.*, pp. 105, 159).
33. MOLISCH (H.), Mikrochemie der Pflanze, Iéna, p. 263 et p. 180, 1921.
34. MOLLIARD (M.), Production expérimentale de tubercules blancs et de tubercules noirs à partir de graines de Radis rose (*C. R. Ac. des Sc.*, t. CXLVIII, p. 573, 1909).
35. MOLLIARD (M.), Obtention artificielle de pétales panachés chez l'Œillette blanche (*C. R. Soc. de Biol.*, t. LXXXII, p. 403, 1919).
36. MOLLIARD (M.), Action morphogénique de quelques substances organiques sur les végétaux supérieurs (*Rev. gén. de Bot.*, t. XIX, p. 241, 1907).
37. MORKOWINE, Recherches sur l'influence des anesthésiques sur la respiration des plantes (*Rev. gén. de Bot.*, t. XI, pp. 289, 341, 1899).
38. NICOLAS (G.), Contribution à l'étude des relations qui existent dans les feuilles entre la respiration et la présence de l'anthocyane (*Rev. gén. de Bot.*, t. XXXI, p. 161, 1919).
39. NOACK (K.), Untersuchungen über den Anthocyanstoffwechsel auf Grund der chemischen Eigenschaften der Anthocyangruppe (*Zeitschr. f. Bot.*, Heft 10, 1918).
40. NOACK (K.), Physiologische Untersuchungen an Flavonolen und Anthocyanen (*Zeitschr. f. Bot.*, Heft 1, 1922).
41. OVERTON (E.), Beobachtungen und Versuche über das Auftreten von rotem Zellsaft bei Pflanzen (*Jahr. bf. wiss. Bot.*, Bd. XXXIII, p. 223 1899).

42. PALLADINE (W.), Ueber die Bildung der Atmungschromogene in den Pflanzen (*Ber. d. deutsch. bot. Ges.*, Berlin, Bd. XXVI, p. 389, 1908).
 43. ROSÉ (E.), Étude des échanges gazeux et de la variation des sucres et des glucosides au cours de la formation des pigments anthocyaniques dans les fleurs de *Cobæa scandens* (*Rev. gén. de Bot.*, t. XXVI, p. 257, 1914).
 44. ROSENHEIM (O.), Observations on Anthocyanins. — I. The anthocyanins of the young leaves of the grape vine (*Bioch. Journ.* vol., XIV, p. 178, 1920).
 45. SHIBATA, SHIBATA et KASIWAGI (*Journ. Amer. Chem. Soc.*, vol. XLI, p. 208, 1919).
 46. SIGMUND (W.), Ueber die Einwirkung von Stoffwechselendprodukten auf die Pflanzen (*Biochem. Zeitschr.*, Bd. LXII, p. 299, 1914).
 47. TREUB (M.), Nouvelles recherches sur le rôle de l'acide cyanhydrique dans les plantes vertes (*Ann. du Jard. bot. de Buitenzorg*, vol. VIII, 2^e série, 1909).
 48. TUNMANN (O.), Ueber kristallinische Ausscheidungen in einigen Drogen (Hesperidine) usw. (*Verh. Naturf. Ges. Salzburg*, II, p. 113, 1910).
 49. VERSCHAFFELT (E.), On the prussic acid in the opening buds of *Prunus* (*Koninklijke Akad. v. Wetensch. te Amsterdam*, p. 31, 1902).
 50. VINTILESCO, Recherches biochimiques sur quelques sucres et glucosides (*Thèse Doct. Sc. nat.*, Paris, 1910).
 51. WEEVERS (TH.), Die physiologische Bedeutung einiger Glykoside (*Rec. Trav. bot. néerland.*, t. VII, p. 1, 1910).
 52. WEIGERT (L.), Beiträge zur Chemie der roten Pflanzenfarbstoffe (*Jahrber. d. öhol. u. pomol. Lehranstalt z. Klosterneuburg*, 1894-1895).
 53. WHELDAL (Miss), The anthocyanin pigments of Plants, Cambridge, 1916.
 54. WHELDAL (Miss), On the nature of anthocyanins (*Proc. Phil. Soc. Cambridge*, vol. XV, p. 137, 1909).
 55. WHELDAL (Miss), On the formation of anthocyanins (*Journ. Geneticis*, I, p. 133, 1911).
 56. WILLSTÄTTER (R.), Untersuchungen ueber Anthocyane [*Liebigs Ann. d. Chemie*, pp. 401 (1913), 404 (1915), 412 (1917)].
 57. WILLSTÄTTER (R.), Ueber die Farbstoffe der Blüten und Früchte (*Sitzungsber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wiss.*, p. 402, 1914).
 58. WILLSTÄTTER (R.) und MALLISON, Ueber die Verwandtschaft der Anthocyane und Flavone (*Sitzungsber. d. Kgl. Preuss. Akad. d. Wiss.*, p. 769, 1914).
-

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Géologie de la Roumanie.

Rôle physiologique de l'hémoglobine.

Vu et approuvé :

Paris, le 16 octobre 1922.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

M. MOLLIARD.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

P. APPELL.

5066-22. — CORBEIL, IMPRIMERIE CRÉTÉ.
